

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Ústav pro životní prostředí

Studijní program: **Ekologie a ochrana prostředí**

Studijní obor: **Ochrana životního prostředí**



Bc. Karolína Štědrá

**Oxidace látek produkovaných sinicí *Microcystis aeruginosa* a její vliv na úpravu
vody koagulací**

Oxidation of compounds produced by cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* and its impact on
water treatment by coagulation

Diplomová práce

Vedoucí práce: **RNDr. Jana Načeradská, Ph.D.**

Praha, 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla veškerou použitou literaturu a informační zdroje. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného akademického titulu. Předložená tištěná verze je totožná s elektronickou verzí vloženou do SIS.

V Praze dne

.....

podpis

Poděkování

Děkuji RNDr. Janě Načeradské, Ph.D. za skvělé vedení mé diplomové práce, za ochotný a velmi přátelský přístup, za trpělivost a pomoc po celou dobu naší spolupráce. Dále děkuji doc. RNDr. Martinovi Pivokonskému, Ph.D. a všem pracovníkům Ústavu pro hydrodynamiku AV ČR, v. v. i. za pomoc a cenné rady při realizaci praktické části práce. Zejména děkuji Ing. Renátě Vašákové, Monice Kondrkové a Karolíně Novákové. Velké dík patří také prof. RNDr. Tomášovi Cajthamlovi, Ph.D. a pracovníkům Laboratoře environmentální biotechnologie Mikrobiologického ústavu AV ČR, v. v. i. za změření a poskytnutí výsledků microcystinů. A konečně děkuji i své rodině za psychickou a finanční podporu během celého mého studia, speciálně pak děkuji svému partnerovi Pavlovi Šalandovi.

Obsah

| | |
|---|----|
| Abstrakt..... | 6 |
| Abstract | 7 |
| Seznam zkratk..... | 8 |
| 1 Úvod..... | 10 |
| 2 Cíle práce a hypotézy | 12 |
| 3 Rešeršní část..... | 12 |
| 3.1 Látky produkované fytoplanktonem | 12 |
| 3.1.1 Cyanotoxiny | 14 |
| 3.1.1.1 Microcystiny..... | 15 |
| 3.2 Vliv AOM na úpravu vody | 17 |
| 3.2.1 Koagulace AOM | 18 |
| 3.3 Oxidace | 21 |
| 3.3.1 Ozon | 23 |
| 3.3.2 Ozonizace | 24 |
| 3.3.2.1 Vliv ozonizace na buňky | 25 |
| 3.3.2.2 Vliv ozonizace na AOM..... | 27 |
| 3.3.2.3 Vliv ozonizace na microcystiny | 28 |
| 4 Experimentální část..... | 31 |
| 4.1 Příprava COM sinice <i>Microcystis aeruginosa</i> | 31 |
| 4.2 Koagulační testy | 32 |
| 4.3 Ozonizační testy | 33 |
| 4.4 Předozonizace | 36 |
| 4.5 Postozonizace | 36 |
| 4.6 Metody měření..... | 37 |
| 4.6.1 Stanovení pH, KNK _{4,5} a koncentrace Al/Fe | 37 |
| 4.6.2 Stanovení koncentrace rozpuštěného organického uhlíku | 37 |
| 4.6.3 Stanovení molekulových hmotností | 37 |
| 4.6.4 Stanovení koncentrace microcystinů | 38 |
| 5 Výsledky a diskuze | 39 |
| 5.1 Výsledky koagulačních testů | 39 |
| 5.2 Výsledky ozonizačních testů | 45 |
| 5.3 Výsledky předozonizace..... | 52 |
| 5.4 Výsledky postozonizace..... | 58 |
| 5.5 Výsledky měření koncentrace microcystinů | 64 |
| 5.5.1 Vliv koagulace na microcystiny | 64 |
| 5.5.2 Vliv ozonizace na microcystiny | 65 |

| | | |
|-------|--|----|
| 5.5.3 | Vliv předozonizace a postozonizace na microcystiny | 67 |
| 6 | Závěr..... | 71 |
| 7 | Použitá literatura..... | 73 |

Abstrakt

V důsledku eutrofizace vodního prostředí dochází k masivnímu rozvoji řas a sinic a vzniká tzv. vodní květ. Úpravný pitné vody se pak musí vypořádat se zvýšeným množstvím buněk a také látek, které řasy a sinice produkují (tzv. AOM). Přítomnost AOM způsobuje mimo jiné snížení účinnosti koagulace, která je při úpravě vody zásadním procesem. S cílem zvýšit její účinnost se přidávají další metody úpravy, například oxidace ozonem zařazená zpravidla před koagulací. Zatímco ozonizaci buněk řas a sinic byla věnována jistá pozornost, o vlivu ozonizace na AOM je toho známo velmi málo.

Tato diplomová práce se zaměřila na vyhodnocení vlivu ozonizace v kombinaci s koagulací na odstranění celulárních organických látek (COM) sinice *Microcystis aeruginosa*. Zkoumán byl vliv ozonizace před koagulací a ozonizace po koagulaci na odstranění COM. Sledována byla také degradace microcystinů, které se přirozeně vyskytovaly ve vzorku COM. Byly aplikovány různé dávky ozonu (1 – 10 mg/L) při třech hodnotách pH – 5, 7 a 9. Koagulace byla prováděna se dvěma koagulačními činidly – síranem hlinitým a síranem železitým.

Samotná ozonizace měla jen zanedbatelný vliv na odstranění COM, ale úspěšně eliminovala microcystiny, jejichž degradace byla účinnější při pH 5 a 7 než při pH 9. Také předozonizace dokázala účinně odstranit microcystiny, ale vedla ke snížení účinnosti odstraňování COM následnou koagulací. Účinnost koagulace se snížila o 1 – 10 % pro koagulaci síranem hlinitým a o 1 – 6 % pro koagulaci síranem železitým. Po předozonizaci klesl podíl vysokomolekulárních látek, a naopak vzrostl podíl nízkomolekulárních látek, které se obtížně koagulují. To bylo pravděpodobně příčinou snížené účinnosti koagulace COM po předozonizaci. Se zvyšující se dávkou ozonu klesala účinnost výrazněji a nejvýraznější snížení účinnosti odstranění COM nastalo při pH 9. Ozonizace zařazená po koagulaci (postozonizace) zvýšila účinnost odstranění COM o 4 – 8 % pro síran hlinitý a o 2 – 8 % pro síran železitý. Tento účinek byl výraznější s rostoucí dávkou ozonu. Zároveň postozonizace také dokázala účinně eliminovat microcystiny, již s dávkou ozonu 2,5 mg/L při pH 5 a 7.

Výsledky naznačují, že vhodnější je použití ozonizace až po koagulaci, jelikož předozonizace zhoršovala účinnost koagulace COM. Ukázalo se, že ozonizace ze vzorku COM účinně odstraňuje microcystiny.

Klíčová slova: koagulace, látky produkovány fytoplanktonem, *Microcystis aeruginosa*, oxidace, ozonizace, úprava vody.

Abstract

Due to eutrophication of aquatic environment, massive growth of algae and cyanobacteria occurs and the seasonal algal bloom is formed. Drinking water treatment plants have to deal with the increased amount of cells as well as organic compounds produced by algae and cyanobacteria (so-called AOM). Moreover, the presence of AOM causes a reduction in the efficiency of coagulation, which is an essential process in drinking water treatment. To increase coagulation efficiency, supportive methods, such as ozone oxidation, are added usually prior to coagulation. While many studies focused on the ozonation of algal and cyanobacterial cells, little is known about the effect of ozonation on AOM.

This diploma thesis focused on the evaluation of the effect of ozonation in combination with coagulation on the removal of cellular organic compounds (COM) produced by cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. The effect of ozonation before or after coagulation on COM removal was investigated. The degradation of microcystins, which are naturally contained in the COM sample, was also monitored. Various ozone doses (1 – 10 mg/L) were tested at three pH values – 5, 7 and 9. Two coagulants were utilized – aluminium sulphate and ferric sulphate.

Ozonation removed COM negligibly. However, eliminated microcystins, the degradation of which was more effective at pH 5 and 7 than at pH 9. Preozonation was also able to remove microcystins effectively, but it decreased coagulation efficiency. The coagulation efficiency was decreased by 1 – 10 % using aluminium sulphate and by 1 – 6 % using ferric sulphate. Preozonation led to a decomposition of high molecular weight to low molecular weight compounds, which are difficult to coagulate. This is probably the reason for reduced COM coagulation efficiency after preozonation. The efficiency decreased more intensively with increasing ozone dose and decreasing ozonation pH. On the contrary, postozonation increased the coagulation efficiency by 4 – 8 % Al-based and by 2 – 8 % Fe-based coagulation. This effect was more noticeable with increasing ozone dose. Postozonation was also able to effectively eliminate microcystins, even with an ozone dose of 2.5 mg/L at pH 5 and pH 7.

The results indicate that using ozonation after coagulation (postozonation) is a better strategy, because preozonation led to the reduction of coagulation efficiency. Ozonation was very effective in removing microcystins in COM samples.

Key words: coagulation, algal organic matter, *Microcystis aeruginosa*, oxidation, ozonation, water treatment.

Seznam zkratk

AOC (Assimilable Organic Carbon) – asimilovaný organický uhlík

AOM (Algal Organic Matter) – organické látky produkované fytoplanktonem

AOP (Advanced Oxidation Process) – pokročilé oxidační procesy

COM (Cellular Organic Matter) – buněčné organické látky

C-DBPs (Carbon – Disinfection By-Products) – uhlíkaté vedlejší produkty dezinfekce vody

DAD (Diode Array Detector) – detektor diodového pole

DBPs (Disinfection By-Products) – vedlejší produkty dezinfekce vody

DOC (Dissolved Organic Carbon) – rozpuštěný organický uhlík

EOM (Extracellular Organic Matter) – extracelulární organické látky

HAA – halogenderiváty kyseliny octové

HPSEC (High Pressure Size Exclusion Chromatography) – vysokotlaká vylučovací chromatografie

IARC (International Agency for Research on Cancer) – Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny

IC (Inorganic Carbon) – anorganický uhlík

ICP – OES (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry) – Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

KNK – kyselinová neutralizační kapacita

LC (Liquid Chromatography) – průtoková chromatografie

LOD (Limit of Detection) – limit detekce

LOQ (Limit of Quantification) – limit kvantifikace

MC – Microcystin

MC-LA – Microcystin-LA (L – leucin; A – alanin)

MC-LR – Microcystin-LR (L – leucin; R – arginin)

MC-RR – Microcystin-RR (R – arginin)

MC-YR – Microcystin-YR (Y – tyrosin; R – arginin)

MW (Molecular Weight) – molekulární hmotnost

N-DBPs (Nitrogen – Disinfection By-Products) – dusíkaté vedlejší produkty dezinfekce vody

NOM – přírodní organické látky

RID (Refractive Index Detector) – detektor indexu lomu

SUVA – specifická UV – absorbance

TC (Total Carbon) – celkový uhlík

THM – trihalogenmetany

TOC (Total Organic Carbon) – celkový organický uhlík

WHO (World Health Organization) – Světová zdravotnická organizace

1 Úvod

V posledních několika letech se Česká republika potýká se suchem a v důsledku toho s nedostatkem vody. Vysycháním jsou ohrožené i vodní zdroje, které slouží jako zásobárny pitné vody (Brázdil et al., 2015). V souvislosti s klimatickou změnou a rostoucím antropogenním tlakem je navíc ohrožená kvalita zdrojů pitné vody. Největší negativní vliv je přičítán především eutrofizaci, na které má velký podíl zemědělství. V důsledku nevhodného hospodaření na zemědělských plochách dochází často ke splachům z polí, což přináší do vodních ekosystémů velké množství živin. Nadměrný přísun živin, zejména dusíku a fosforu pak podporuje masivní rozvoj fytoplanktonu, tedy řas a sinic (de Figueiredo et al., 2004; de la Cruz et al., 2011; USEPA, 2016; Jasim & Saththasivam, 2017). Za běžných podmínek jsou řasy a sinice v rovnováze s ostatními vodními organismy, jestliže mají ale zvýšený přísun živin, narůstá jejich biomasa a objevuje se tzv. vodní květ. Růst populace řas a sinic navíc ještě podporuje zvyšující se teplota vody nebo nízká míra turbulence vody (de Figueiredo et al., 2004; USEPA, 2016; Eke et al., 2018). Vodní květy představují hrozbu nejen pro celý vodní ekosystém, ale také pro člověka (Ozawa et al., 2005; Alvarez et al., 2010; Jasim & Saththasivam, 2017). Ve vodních nádržích mohou měnit vlastnosti vody jako jsou pH a množství rozpuštěného kyslíku, ovlivňují zákal, chuť a zápach vody. Některé druhy sinic produkují nebezpečné toxiny (Miao & Tao, 2009; Rositano et al., 2001; Coral et al., 2013; USEPA, 2016). To všechno ve výsledku negativně ovlivňuje proces úpravy vody.

Úpravny pitné vody se v případě výskytu vodního květu musí vypořádat se zvýšeným množstvím buněk řas a sinic, ale také s širokým spektrem látek, které řasy a sinice produkují, s tzv. AOM (Algal Organic Matter) (Pivokonský et al., 2016). V období růstu populace řas a sinic dominuje extracelulární organická hmota (EOM – Extracellular Organic Matter), když ale dochází k rozpadu vodního květu a odumírání buněk začíná převládat celulární organická hmota (COM – Cellular Organic Matter) (Pivokonský et al., 2006, 2014). Přítomnost nadměrného množství AOM (ať už EOM nebo COM) v surové vodě snižuje účinnost některých technologií úpravy vody a může vést až k jejich kolapsu a/nebo k produkci pitné vody s nevyhovující kvalitou (Zhang et al., 2010). Jedním z problémů je snížení účinnosti procesu koagulace, která je zásadním procesem nejen při odstraňování buněk řas a sinic a AOM (Widrig et al., 1996; Takaara et al., 2007; Henderson et al., 2008b; Ma et al., 2012b; Pivokonský et al., 2012). Zatímco buňky řas a sinic jsou odstraňované s vysokou účinností (> 90 %), odstranění AOM je složitější (Henderson et al., 2010; Zhang et al., 2012; Pivokonský et al., 2016; Barešová et al., 2017). V mnohých případech byla snaha vypořádat se se sníženou účinností koagulace

zvýšením dávky koagulačního činidla. Tento krok sice může zvýšit účinnost odstraňování AOM, ale vyšší spotřeba koagulačních činidel a následná nadměrná produkce kalu zvyšují náklady úpravy vody (Takaara et al., 2007; Sano et al., 2011; Ma et al., 2012a). Navíc vysoké dávky koagulačních činidel mohou způsobovat nadlimitní zbytkové koncentrace činidel po koagulaci (Pivokonský et al., 2016). Zbytkové koncentrace AOM při závěrečné dezinfekci vody slouží jako prekursorů vzniku vedlejších produktů dezinfekce vody (DBPs – Disinfection By-products) nebo jako zdroj asimilovatelného organického uhlíku (AOC – Assimilable Organic Carbon) (van der Kooij et al., 1995; Fang et al., 2010; Coral et al., 2013; Xie et al., 2013; Pivokonský et al., 2016). Bylo navíc zjištěno, že koagulace není příliš účinná při odstraňování látek s nízkou molekulovou hmotností a nedokáže si poradit se sinicovými toxiny (cyanotoxiny) (Al Momani et al., 2008; Henderson et al., 2008a, 2010; Westrick et al., 2010; Pivokonský et al., 2012; Sharma et al., 2012; Načeradská et al., 2019a). Hledají se proto jiné, alternativní postupy, kterými lze dosáhnout zvýšené účinnosti konvenčních postupů úpravy vody při odstraňování AOM.

Jedním z možných postupů je použití chemické oxidace, která se nejčastěji aplikuje před koagulací (de la Cruz et al., 2011; Coral et al., 2013; Xie et al., 2013). Často používaným oxidantem je ozon, který je silným oxidačním činidlem a na úpravách pitné vody se běžně používá k odstranění zákalu, nepříjemné chuti a zápachu nebo jako dezinfekční činidlo (Bose & Reckhow, 2007; Miao & Tao, 2009; Alvarez et al., 2010; de la Cruz et al., 2011). Vhodné je jeho použití pro vody s obsahem cyanotoxinů, jelikož se při jejich eliminaci prokázal jako nejúčinnější (Miao & Tao, 2009; Jasim & Saththasivam, 2017). Při použití oxidace k podpoře koagulace je však nezbytné nastavit vhodné podmínky, aby bylo dosaženo úspěšného odstranění nejen buněk ale i AOM. Například vyšší dávky mohou poškodit buňky a způsobit tak uvolnění nežádoucích COM a cyanotoxinů (Ma et al., 2006; Fan et al., 2013). Je nezbytné zvolit nejen vhodnou dávku oxidačního činidla, ale také optimální pH. Přičemž významnou roli hraje složení a množství AOM a případně přítomnost dalších organických látek (Paralkar & Edzwald, 1996; Widrig et al., 1996; Rositano et al., 2001; Ma et al., 2006; Coral et al., 2013).

Většina studií, které se zabývají oxidací AOM, se věnuje oxidaci AOM v přítomnosti řasových a sinicových buněk a jen velmi málo jich řeší oxidaci samotných AOM. Nejmenší pozornost je věnovaná oxidaci COM, a to i přesto, že v době rozpadu vodního květu tvoří COM dominantní část AOM (Pivokonský et al., 2006; Načeradská et al., 2017).

Tato diplomová práce se proto zaměřila na vyhodnocení účinků oxidace ozonem na COM sinice *Microcystis aeruginosa*, která je jednou z nejrozšířenějších sinic ve vodních zdrojích, a její následnou koagulaci. Práce se dále zaměřuje na vliv oxidace ozonem na odstranění

zbytkových COM po koagulaci. V obou případech byl sledován vliv oxidace ozonem na degradaci toxinů sinice *M. aeruginosa* (microcystinů), které se přirozeně vyskytovaly ve vzorku COM.

2 Cíle práce a hypotézy

Hlavní cíl:

Zjistit, jaký vliv má ozonizace v kombinaci s koagulací na odstranění COM sinice *Microcystis aeruginosa*.

Dílčí cíle:

- 1) Zhodnotit vliv ozonizace COM na jejich následnou koagulaci.
- 2) Zjistit, zda ozonizace zařazená za koagulaci přispívá k odstraňování COM.
- 3) Posoudit vliv dávky ozonu a ozonizačního pH na procesy: ozonizace – koagulace a koagulace – ozonizace.
- 4) Sledovat vliv ozonizace – koagulace a koagulace – ozonizace na odstraňování microcystinů obsažených v COM.

Hypotézy:

- 1) Předozonizace bude zhoršovat účinnost koagulace COM *M. aeruginosa*.
- 2) Ozonizace po koagulaci zvýší účinnost odstranění COM – čím vyšší bude dávka ozonu, tím vyšší bude účinnost.
- 3) Ozonizace povede k odstranění microcystinů, nicméně před koagulací je bude odstraňovat hůře než po ní. A účinnější bude při nižších hodnotách pH.

3 Rešeršní část

3.1 Látky produkované fytoplanktonem

Látky, které řasy a sinice produkují – tzv. AOM (Algal Organic Matter) se do vody dostávají dvěma způsoby. Podle původu je rozlišujeme na extracelulární organickou hmotu (EOM – Extracellular Organic Matter), která vzniká při metabolické činnosti řas a sinic a na celulární organickou hmotu (COM – Cellular Organic Matter), někdy také nazývaná jako intracelulární organická hmota (IOM – Intracellular Organic Matter), která se uvolňuje při buněčné lýzi. V obou případech (EOM i COM) se jedná o směs různých organických látek. Tvoří je mono a polysacharidy, proteiny, peptidy, aminokyseliny, nukleové kyseliny a další organické kyseliny a u sinic také toxiny. Součástí jsou i sloučeniny způsobující nepříjemnou chuť a zápach (Hitzfeld et al., 2000; Ozawa et al., 2005; Henderson et al., 2008b; Zhang et al.,

2010; Pivokonský et al., 2016). Složení a množství AOM není vždy stejné – liší se v závislosti na druhu mikroorganismu, ale významnou roli hraje také stáří kultury a růstová fáze, ve které se populace aktuálně nachází (Hoyer et al., 1985; Paralkar & Edzwald, 1996; Pivokonský et al., 2006; Leloup et al., 2013; Pivokonský et al., 2014). Obecně se tedy liší jak zastoupení jednotlivých složek AOM (EOM a COM), tak jejich složení.

Podíl COM vůči EOM se zvyšuje se stárnutím populace řas a sinic. Množství COM narůstá zejména v době, kdy je populace řas a sinic ve fázi poklesu, přičemž dochází k buněčné lýzi a COM se uvolňuje z buněk (Pivokonský et al., 2006, 2014). Pivokonský et al., 2014 zkoumali růst sinice *Microcystis aeruginosa*, rozsivky *Fragilaria crotonensis* a zelené řasy *Chlamydomonas geitleri* a zjistili, že během exponenciální fáze růstu byl celkový rozpuštěný organický uhlík (DOC – Dissolved Organic Carbon) tvořen především EOM, které vylučovaly živé buňky. V následné stacionární fázi populace již nerostla, ale koncentrace celkového DOC se i nadále zvyšovala. To bylo zapříčiněno jednak pokračující produkcí EOM, ale zejména pak zvýšenou mírou odumírání buněk doprovázenou uvolňováním COM. Byly zaznamenány rozdíly v produkci celkového množství DOC mezi jednotlivými studovanými mikroorganismy. Konkrétně produkce DOC *M. aeruginosa* a *C. geitleri* byla podobná, zatímco *F. crotonensis* produkovala výrazně větší množství DOC. Autoři zkoumali také složení AOM – podíl peptidů/proteinů a neproteinové složky. Během kultivace všech mikroorganismů se výrazně zvýšil podíl peptidů/proteinů. To bylo pravděpodobně způsobeno uvolňováním COM během stacionární fáze, jelikož se ukázalo, že COM obsahuje větší množství peptidů/proteinů než EOM. Největší podíl byl zaznamenán u sinice *M. aeruginosa*. Jejich výsledky jsou v souladu s tím, co zjistili Pivokonský et al., 2006. Ti studovali AOM sinic *Anabaena flos-aqua* a *Microcystis aeruginosa* a zelené řasy *Scenedesmus quadricauda*. Množství AOM se u všech tří zvyšovalo se stářím kultury a zároveň rostl také podíl peptidů/proteinů. V této studii byla největší koncentrace AOM naměřená u *M. aeruginosa*. Dále bylo také zjištěno, že COM obsahuje více sloučenin s vysokou molekulovou hmotností než EOM, obsahuje větší zastoupení hydrofilní frakce a vykazuje nižší specifickou UV absorbanci (SUVA) (Li et al., 2012; Pivokonský et al., 2014). Fang et al., 2010 navíc uvedli, že COM *M. aeruginosa* obsahovaly více celkového organického dusíku s vysokou molekulovou hmotností a obsahovaly větší frakce volných aminokyselin, ale nižší frakce alifatických aminů než EOM.

Různorodost ve složení a množství AOM vyžaduje při jejich odstraňování z vody přizpůsobení procesů úpravy vody aktuální situaci. Velká pozornost AOM je věnována proto, že negativně ovlivňují organoleptické vlastnosti vody – barvu, chuť a zápach, mohou obsahovat toxické sloučeniny (cyanotoxiny) a při jejich nedostatečném odstranění vznikají při dezinfekci

vody látky označované jako vedlejší produkty dezinfekce vody (DBPs). Navíc jakékoli organické látky přítomné v upravené vodě tvoří tzv. asimilovatelné organické látky (AOC), které mohou sloužit jako zdroj energie pro heterotrofní mikrobiální organismy přítomné na úpravě pitné vody nebo ve vodovodní síti (van der Kooij et al., 1995; Li et al., 2018). To vše představuje riziko pro lidské zdraví (Pivokonský et al., 2014; 2016). Vliv AOM na procesy úpravy vody je podrobněji popsán v kapitole 3.2.

3.1.1 Cyanotoxiny

Vodní květy bývají v mnohých případech spojené s problematikou toxinů, za jejichž produkci jsou odpovědné sinice (USEPA, 2016). Sinicové toxiny neboli cyanotoxiny jsou výsledkem sekundárního metabolismu sinic (Westrick et al., 2010). Jelikož sinice často bývají dominantní složkou vodních květů, je přibližně 50 – 70 % z nich toxických (Rositano et al., 2001; USEPA, 2016). Vystavení lidí toxinům může mít vážné následky pro jejich zdraví (Jasim & Saththasivam, 2017). Nebezpečné jsou ale také pro divoká i hospodářská zvířata a nepříznivě ovlivňují celý ekosystém (Al Momani, et al., 2008; Alvarez et al., 2010; Jasim & Saththasivam, 2017). Na úpravách pitné vody cyanotoxiny obecně zvyšují náročnost i nákladnost celého technologického procesu, přispívají k tvorbě vedlejších produktů dezinfekce vody (DBPs) a mohou podporovat růst mikroorganismů v distribuční síti (Westrick et al., 2010; Coral et al., 2013; Jasim & Saththasivam, 2017).

Ne všechny sinice jsou ale schopné toxiny produkovat. Westrick et al., 2010 uvádí, že je toho schopno jen asi 40 % druhů. Podle kanadské zprávy Health Canada z roku 2017 produkuje toxiny asi 60 druhů sinic (přičemž celkově je známo více než 2000 druhů). To, proč sinice toxiny produkují, není zcela jasné. Jedním z možných vysvětlení je, že sinice používají toxiny k ochraně před predátory. A díky nim také získávají konkurenční výhodu (de Figueiredo et al., 2004). Různé druhy sinic však produkují různé typy cyanotoxinů, které se liší chemickou strukturou i vlastnostmi (AWWA, 2015; Jasim & Saththasivam, 2017). Některé druhy jako například *Anabaena* produkují i více typů toxinů (Westrick et al., 2010; Health Canada, 2017). Sinicové toxiny se rozlišují z hlediska fyziologických účinků na orgány, tkáně a buňky ostatních organismů (Jasim & Saththasivam, 2017). Nejběžnějšími skupinami cyanotoxinů jsou: hepatotoxiny, neurotoxiny a dermatotoxiny (Rositano et al., 1998; Rositano et al., 2001; de Figueiredo et al., 2004; Dyble J. et al., 2008; Alvarez et al., 2010; AWWA, 2015; Health Canada, 2017).

Hepatotoxiny poškozují játra a v závažných případech mohou způsobit i jejich selhání. Nejběžnějšími hepatotoxiny jsou microcystiny, kterým je věnována obzvláště velká pozornost.

Patří sem ale také například nodularin a cylindrospermopsin (Rositano et al., 2001; de Figueiredo et al., 2004; Alvarez et al., 2010). Do skupiny neurotoxinů patří například anatoxin či saxitoxin, které působí na nervový systém (Rositano et al., 2001; AWWA, 2015; Jasim & Saththasivam, 2017). Dermatotoxiny, například aplysiatoxiny jsou dráždivé pro pokožku (de Figueiredo et al., 2004; AWWA, 2015).

Do vody se cyanotoxiny mohou uvolňovat vylučováním, buněčnou lýzí nebo rozbitím buňky. K buněčné lýzi může dojít při stárnutí populace sinic, v důsledku přirozeného rozkladu. Buněčná lýze může být ale také výsledkem vnějšího zásahu například použitím chemikálií (př. algicidů) nebo čerpáním surové vody k její úpravě (Al Momani et al., 2008; Dyble et al., 2008; Westrick et al., 2010; AWWA, 2015). K porušení buněk dochází také při samotné úpravě pitné vody např. při předoxidaci (Shawwa & Smith, 2001; Takaara et al., 2007; Fang et al., 2010). Dokud jsou toxiny uvnitř buňky, pak se označují jako intracelulární (USEPA, 2016). Jsou přítomné v buněčných stěnách nebo v cytoplazmě (Westrick et al., 2010; AWWA, 2015). Jsou-li mimo buňku, přítomné přímo ve vodě, pak se jedná o extracelulární nebo také rozpuštěné toxiny (USEPA, 2016). Odstranění rozpuštěných toxinů je mnohem složitější než odstranění těch intracelulárních, které jsou odstraňovány společně s celými buňkami sinic (de Figueiredo et al., 2004; Dyble et al., 2008; AWWA, 2015; Jasim & Saththasivam, 2017). Pro odstranění rozpuštěných toxinů bývá proto nezbytné přidat ke konvenčním procesům úpravy vody další kroky, například chemickou oxidaci nebo adsorpci na aktivní uhlí (USEPA, 2016).

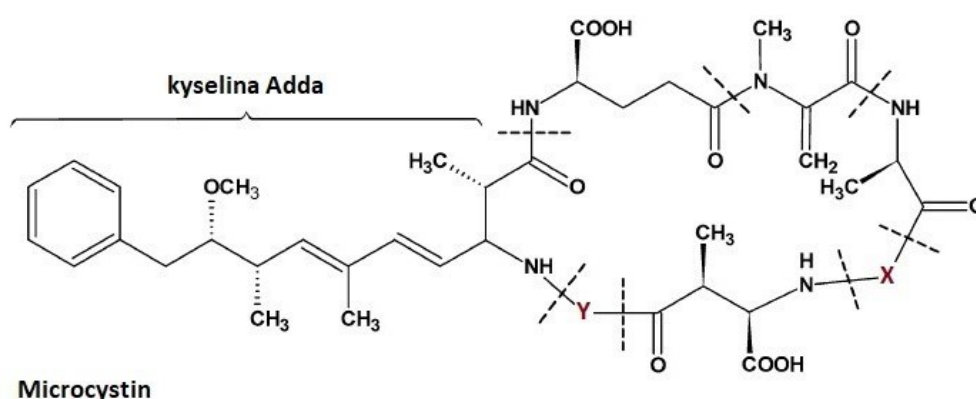
Vzhledem k tomu, že vodní květy jsou vždy směsí různých druhů řas a sinic a ne všechny sinice jsou schopné toxiny produkovat, je vhodné v této souvislosti provádět pravidelné monitorování a sledovat aktuální stav kvality vody (Westrick et al., 2010; Zamyadi et al., 2013; USEPA, 2016; Health Canada, 2017). Může také nastat situace, kdy jsou přítomné druhy sinic schopné toxiny produkovat, ale k jejich produkci nedochází (Westrick et al., 2010). Navíc neexistuje přímý vztah mezi počtem buněk a koncentrací cyanotoxinů ve vodě (Health Canada, 2017).

3.1.1.1 Microcystiny

Microcystiny jsou nejčastější a nejvíce studovanou skupinou cyanotoxinů (Alvarez et al., 2010; Westrick et al., 2010). Důvodem je to, že často dosahují velmi vysokých koncentrací ve vodních květech, jsou relativně stabilní a odolné vůči biologickému i chemickému rozkladu a objevují se na mnoha místech světa (Health Canada, 2017). Navíc představují riziko pro lidské zdraví, jelikož mohou způsobit akutní otravu a při chronickém vystavení je i riziko vzniku rakoviny (de Figueiredo et al., 2004; Alvarez et al., 2010). Ve spoustě zemí Evropy ale také

například v Kanadě a Spojených státech byly zaznamenány případy vodních květů, které produkovaly právě microcystiny. Většina těchto případů byla spojena zejména se sinicí *Microcystis aeruginosa* (de Figueiredo et al., 2004). Právě sinice rodu *Microcystis* jsou považovány za hlavní producenty těchto toxinů (Dyble et al., 2008; Zamyadi et al., 2013). Mezi další producenty patří například rody *Anabaena*, *Planktothrix*, *Aphanizomenon*, *Nostoc* nebo *Oscillatoria* (de Figueiredo et al., 2004; Ozawa et al., 2005; Rodríguez et al., 2007b; Al Momani et al., 2008; Dyble et al., 2008; Alvarez et al., 2010; Westrick et al., 2010).

Microcystiny jsou cyklické peptidy tvořené sedmi aminokyselinami. Součástí kruhu je specifický postranní řetězec označovaný jako kyselina Adda – jedná se o kyselinu 3-amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-fenyldek-4,6-dienovou. Právě Adda je odpovědná za toxicitu microcystinů (Westrick et al., 2010; Health Canada, 2017). Součástí celé molekuly jsou také dvě variabilní aminokyseliny, které určují variantu microcystinu (Obr. 1). Podle těchto dvou aminokyselin se určuje název molekuly (Al Momani et al., 2008; Health Canada, 2017). Vyskytuje se pravděpodobně více než 80 různých variant microcystinů, které se liší svou toxicitou (de la Cruz et al., 2011; Health Canada, 2017).



Obr. 1: Struktura microcystinu. X a Y představují dvě variabilní aminokyseliny. (Upraveno podle: Schneider & Bláha, 2020)

Nejběžnější variantou microcystinů je MC-LR, který obsahuje aminokyseliny leucin (L) a arginin (R), od kterých pochází označení LR (de Figueiredo et al., 2004; Rodríguez et al., 2007b; Al Momani et al., 2008; Alvarez et al., 2010; de la Cruz et al., 2011; Eke et al., 2018). Další varianty, které se spolu s ním často vyskytují, jsou MC-LA, MC-RR a MC-YR (de Figueiredo et al., 2004; de la Cruz et al., 2011; Health Canada, 2017).

Světová zdravotnická organizace (WHO) stanovila u microcystinu-LR limit pro pitnou vodu, který je 1 µg/L (WHO, 2017). I v české legislativě je Vyhláškou č. 252/2004 Sb. pro tento microcystin stanoven limit 1 µg/L. V roce 2006 klasifikovala Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) microcystin-LR jako potenciální karcinogen (skupina 2B) (WHO, 2017).

3.2 Vliv AOM na úpravu vody

Při výskytu vodního květu musí být úprava pitné vody schopná poradit si nejen se zvýšeným množstvím buněk řas a sinic, ale také s látkami, které řasy a sinice produkují (AOM) (Pivokonský et al., 2016). Zatímco buňky dokáže konvenční úprava vody zpravidla účinně odstranit (Henderson et al., 2010; Zhang et al., 2012; Pivokonský et al., 2016; Barešová et al., 2017), AOM mohou způsobovat celou řadu problémů. V důsledku vysokých koncentrací AOM dochází ke snížení účinnosti koagulace (Widrig et al., 1996; Takaara et al., 2007; Henderson et al., 2008b; Ma et al., 2012b; Pivokonský et al., 2012), k zanášení filtračních membrán (Li et al., 2011; Qu et al., 2012; Pramanik et al., 2015; Wei et al., 2016) nebo snížení účinnosti adsorpce na aktivním uhlí (Hnatukova et al., 2011; Kopecká et al., 2014). Problém představují také cyanotoxiny (Hitzfeld et al., 2000; Hoeger et al., 2002; Westrick et al., 2010; He et al., 2012) a sloučeniny způsobující nepříjemnou chuť a zápach (Huang et al., 2007; Li et al., 2012; Fan et al., 2013; Liu et al., 2017). Během fáze odumírání vodního květu se do vody navíc uvolňuje velké množství celulární organické hmoty (COM). Tím se ještě více zvyšují koncentrace AOM v surové vodě a v důsledku toho může dojít až ke kolapsu úpravy nebo k produkci pitné vody s nevyhovující kvalitou (Zhang et al., 2010). Jakékoliv zbytkové buňky nebo AOM přítomné v již upravené vodě dále zhoršují její kvalitu. Z buněk se mohou uvolnit toxiny, objevují se problémy s chutí a zápachem (Henderson et al., 2010; Xie et al., 2013) a při závěrečném hygienickém zabezpečení se tvoří vedlejší produkty dezinfekce vody (DBPs) (Fang et al., 2010; Lui et al., 2011; Zamyadi et al., 2012; Zhou et al., 2015).

Vedlejší produkty dezinfekce vody představují vážné zdravotní riziko. Toxické účinky jednotlivých typů DBPs jsou různé v závislosti na jejich složení. To je v tomto případě dáno zejména charakterem a množstvím AOM, které slouží jako jejich prekurzory. Důležitou roli hrají také podmínky ošetření oxidačními činidly např. reakční doba (Lui et al., 2011; Pivokonský et al., 2016). Obecně lze DBPs rozdělit na uhlíkaté DBPs (C-DBPs) a dusíkaté DBPs (N-DBPs). Hlavní skupinou C-DBPs jsou trihalogenmetany (THM), mezi které patří například bromoform, bromodichlormetan, chloroform, dibromochlorometan (Camel & Bermond, 1998; WHO, 2017). Další často se vyskytující jsou halogenderiváty kyseliny octové

(HAA). Je-li v chlorované vodě přítomný vysoký obsah dusíkatých organických látek, dochází zejména k tvorbě N-DBPs např. nitrosaminů, haloacetonitrilů (HAN), halonitrometanů (HNM), které jsou toxičtější než C-DBPs a vzbuzují tak ještě větší obavy (Fang et al., 2010; Pivokonský et al., 2016). Vzniku těchto sekundárních kontaminantů se dá zabránit odstraněním veškerých AOM z vody před závěrečným hygienickým zabezpečením (Camel & Bermond, 1998). Pokud jsou konvenční postupy, zejména koagulace, nedostatečné, je nezbytné přidat další technologie úpravy vody.

V případě, že je surová voda zatížena řasami a sinicemi a AOM, je důležité znát jejich původ a složení. Na základě toho se dá zvolit vhodná strategie úpravy vody. Za pomoci optimalizace podmínek je pak možné docílit nejúčinnějšího odstranění buněk i organických látek. K tomu je vhodné provádět pravidelné monitorování zdrojů pitné vody, aby bylo možné na základě toho odhadnout množství a složení AOM (Pivokonský et al., 2014).

3.2.1 Koagulace AOM

Při odstraňování řas a sinic a jejich produktů (AOM) je nejpoužívanějším procesem na úpravě vody koagulace (Henderson et al., 2008b; Gonzalez-Torres et al., 2014; Liu et al., 2019; Načeradská et al., 2019a). Pod pojmem koagulace chápeme destabilizaci a následnou agregaci částic přítomných v surové vodě. Částice přítomné ve vodě mohou být stabilní v důsledku: působení elektrostatických odpuzivých sil vyvolaných elektrickou dvojrivrstvou; hydrofilních interakcí, díky kterým se voda váže na povrchu částic; sterickým interakcím v důsledku molekul adsorbovaných na povrchu částic. Použitím koagulačního činidla dochází k destabilizaci částic a při současném míchání se tvoří agregáty (vločky), které se následně z vody separují. Destabilizace částic ve vodě se dá dosáhnout například zvýšením iontové síly roztoku, čímž se sníží tloušťka elektrické dvojrivrstvy nebo specifickou adsorpcí protiiontů, v důsledku čehož dojde k neutralizaci náboje částic. Jelikož většina částic přítomných v surové vodě má negativní náboj, mohou být použity kationty, které vedou k neutralizaci jejich náboje. Jako účinné se ukázaly být kationty Fe^{3+} a Al^{3+} , které v důsledku hydrolýzy poskytují celou řadu kladně nabitých produktů. Kromě mechanismu neutralizace se v souvislosti s kationty kovů uplatňuje také začleňování nečistot do struktury sraženiny amorfního hydratovaného oxidu kovu (Edzwald, 1993; Duan & Gregory, 2003). Soli železa a hliníku se tak na úpravnách běžně používají jako koagulační činidla, nejčastěji v podobě síranu hlinitého (Widrig et al., 1996; Pivokonský et al., 2009a; Henderson et al., 2010; Guo et al., 2017), síranu železitého (Pivokonský et al., 2012; Gonzalez-Torres et al., 2014; Barešová et al., 2017), chloridu železitého (Widrig et al., 1996; Gonzalez-Torres et al., 2014; Načeradská et al., 2019b) nebo

polyaluminiumchloridu (Takaara et al., 2007; Liu et al., 2019; Načeradská et al., 2019a). K dosažení účinné koagulace a uplatnění výše zmíněných mechanismů je nezbytné nastavit vhodné podmínky koagulace – dávku a typ koagulačního činidla a optimální rozmezí pH (Pivokonský et al., 2009a).

Vzhledem k různorodému složení AOM je optimalizace podmínek koagulace nezbytným předpokladem pro dosažení maximálního odstranění těchto látek (Henderson et al., 2008b; Pivokonský et al., 2009b; Načeradská et al., 2019a). K zjištění optimálních podmínek koagulace slouží jar test neboli sklenicová optimalizační zkouška (Načeradská et al., 2019b). AOM mohou v závislosti na jejich koncentraci, složení a vlastnostech zhoršit, ale v některých případech také zlepšit účinnost koagulace, jelikož se uplatňují různé koagulační mechanismy (Barešová et al., 2017; Načeradská et al., 2019a). Většina studií o koagulaci AOM se zabývala koagulací buněk řas a sinic současně s EOM/COM uvolněných při růstu buněk nebo při jejich oxidaci (Ma et al., 2006; Henderson et al., 2008b; 2010; Westrick et al., 2010; Vandamme et al., 2012; Garzon-Sanabria et al., 2013; Zamyadi et al., 2013a; Gonzalez-Torres et al., 2014; Liu et al., 2019). Menší množství studií zkoumalo koagulaci samotných AOM (Pivokonský et al., 2009a,b; 2012; 2015; Gonzalez-Torres et al., 2014; Barešová et al., 2017; Liu et al., 2019; Načeradská et al., 2019a) nebo vliv AOM na koagulaci ostatních znečišťujících příměsí např. kaolinu nebo huminových látek (Takaara et al., 2007; Šafaříková et al., 2013; Pivokonský et al., 2015). Zatímco buňky řas a sinic se koagulací odstraňují s poměrně vysokou účinností (> 90 %), AOM jsou odstranitelné obtížněji.

Například Barešová et al., 2017, kteří zkoumali koagulaci (pomocí síranu železitého) COM sinice *Merismopedia tenuissima* v přítomnosti buněk, zjistili, že samotné buňky byly koagulací odstraněny při pH 6 – 7,7 s účinností 99 %, ale účinnost odstranění COM byla relativně nízká a to 37 – 57 %. Když ale koagulovali COM spolu s buňkami, snížily se potřebné dávky koagulačního činidla a bylo dosaženo vyšší účinnosti. V přítomnosti COM se posunulo optimální pH pro odstranění buněk ze 6 – 7,7 na 5 – 6,5, což naznačuje změnu koagulačních mechanismů. Samostatné buňky byly odstraněny adsorpcí na hydratované oxidy železa, ale ve směsi COM a buněk převažovala nábojová neutralizace. Jak COM, tak buňky měly při mírně kyselém pH (5 – 6,5) záporný náboj, takže interagovaly s kladně nabitými Fe-hydroxopolymery. V tomto případě sloužily COM jako přírodní flokulant a podporovaly srážení buněk, proto se snížila dávka potřebného koagulačního činidla. To je v souladu s výsledky Henderson et al., 2010, kteří zjistili, že AOM sinice *Microcystis aeruginosa* bohaté na proteiny s vysokou molekulovou hmotností napomáhají polymeraci a koagulaci buněk. Barešová et al., 2017 dospěli k závěru, že v přítomnosti řas a sinic je vhodné upravit pH vody

na 6 – 7. Při nižším pH může být narušena integrita buněk a v důsledku uvolnění COM narůstají koncentrace DOC. Podpurný koagulační účinek COM byl připisován přítomnosti látek s vysokou molekulovou hmotností (> 10 kDa). Nicméně, převažující podíl nízkomolekulárních látek a látek hydrofilních byl příčinou nízké účinnosti odstranění COM (Barešová et al., 2017). I několik dalších studií zjistilo, že látky s nízkou molekulovou hmotností jsou hůře koagulovatelné než ty vysokomolekulární (Pivokonský et al., 2012; 2015; Liu et al., 2019; Načeradská et al., 2019a). Gonzalez-Torres et al., 2014 zkoumali účinnost odstranění různých velikostních frakcí COM sinice *Microcystis aeruginosa* za pomoci síranu hlinitého. Zjistili, že při stejných dávkách koagulačního činidla a stejném pH vykazovaly frakce > 100 kDa a 30 – 100 kDa vyšší účinnosti odstranění než frakce 10 – 30 kDa a 3 – 10 kDa. Odstranění největší frakce bylo nejvýznamnější. Nejvíce zastoupenou skupinou látek v COM byly proteiny.

Odstranění AOM je tedy ovlivněno jeho složením – zejména obsahem proteinových a neproteinových organických látek. Obě tyto složky jsou koagulovány za jiných podmínek, jelikož se uplatňují různé koagulační mechanismy (Pivokonský et al., 2009a; Načeradská et al., 2019a). Pivokonský et al., 2009a zjistili, že proteiny v COM sinice *M. aeruginosa* byly odstraněny s vyšší účinností než ostatní látky, zejména polysacharidy. Celkově byla ale účinnost odstranění COM nízká. Dosáhli 50 % účinnosti se síranem železitým a 41 % účinnosti se síranem hlinitým jako koagulačními činidly. Načeradská et al., 2019a se zabývali koagulací neproteinové složky AOM zelené řasy *Chlorella vulgaris* síranem hlinitým a PACl. Ve srovnání s jinými studiemi dospěli k závěru, že ke koagulaci neproteinové složky AOM jsou potřebné vyšší dávky koagulačního činidla a zároveň se dosahuje ještě nižších účinností odstranění než v případě proteinové složky. Konkrétně, za optimalizovaných podmínek se jim podařilo dosáhnout pouze 25 % účinnosti v rozmezí pH 6,6 – 7,5 pro síran hlinitý a 7,5 – 9 pro PACl. Takto nízká účinnost byla připisována vysokému obsahu nízkomolekulárních látek. Právě látky s $MW < 3$ kDa tvořily většinu zbytkových organických látek po koagulaci. Ty tak vyžadují jiné procesy odstranění, například přidání adsorpce na aktivní uhlí, membránové filtrace nebo chemické oxidace ke konvenčním procesům úpravy vody (Načeradská et al., 2019a).

Koagulaci celých AOM (z velké části tvořených EOM) se věnovali např. Henderson et al., 2010. Zjistili, že potřebná dávka koagulačního činidla (síranu hlinitého) k dosažení maximálního odstranění AOM byla 0,8; 1,2 a 1,5 mg Al/mg DOC pro *Chlorella vulgaris*, *Microcystis aeruginosa* a *Asterionella formosa*. Účinnost odstranění přitom byla 71 %, 55 % a 46 %. *M. aeruginosa* vyžadovala vyšší dávku koagulačního činidla než *C. vulgaris*, protože má nižší nábojovou hustotu, což podporuje tvorbu komplexů mezi koagulantem a proteiny a

zvyšuje tak spotřebu koagulačního činidla. Ještě vyšší dávku u *A. formosa* autoři vysvětlili tím, že materiál z této řasy je tvořen především nízkomolekulárními látkami. To vysvětluje i její nejnižší účinnost odstranění. Nejúčinnější byla koagulace v případě *C. vulgaris*, jelikož AOM byly silně nabitě a obsahovaly velký podíl vysokomolekulárních látek. Již Henderson et al., 2008a zjistili, že AOM těchto tří mikroorganismů se od sebe liší v hustotě náboje, hydrofobicitou, obsahem proteinů a zastoupením různých molekulových hmotností. Navíc každý druh produkuje odlišné množství AOM. Tím vznikají rozdíly v účinnostech jejich odstranění.

Koagulací chceme dosáhnout co nejúčinnějšího odstranění nečistot z vody, aby se minimalizovaly nepříznivé účinky v dalších krocích úpravy vody. Podmínky koagulace je ale nezbytné nastavit také s ohledem na zbytkové koncentrace hliníku nebo železa v případě použití jejich solí jako koagulačních činidel. Dávka činidla musí být stanovena tak, aby byla optimální pro maximální odstranění AOM (či jiných nečistot) a zároveň, aby zbytkové koncentrace hliníku nebo železa byly co nejnižší (Henderson et al., 2010; Liu et al., 2019; Načeradská et al., 2019a). Respektive, aby splňovaly limity pro pitnou vodu stanovené Vyhláškou č. 252/2004 Sb., které jsou 0,2 mg/L pro hliník i železo.

Různé látky vyžadují rozdílné podmínky koagulace, což je dáno zejména různými mechanismy, které se při jejich odstraňování uplatňují, jak již bylo popsáno výše. Liší se podmínky pro celé AOM, pro proteinové a neproteinové složky AOM i ostatní přírodní organické látky (NOM) (Henderson et al., 2010; Pivokonský et al., 2012; Barešová et al., 2017; Guo et al., 2017; Načeradská et al., 2019a). Bylo zjištěno, že buňky řas a sinic jsou účinně koagulovány při mírně kyselém až neutrálním pH, zatímco pro AOM jsou vhodnější kyslejší hodnoty pH. Anorganické částice jsou nejúčinněji odstraňovány při neutrálním pH. Jestliže je v surové vodě přítomna směs různých látek, pak dochází ke změně vhodné dávky koagulantu a posunu optimálního pH v důsledku vzájemných interakcí mezi jednotlivými nečistotami (Načeradská et al., 2019b). Je proto důležité věnovat pozornost složení a charakteru látek přítomných v surové vodě a přizpůsobit tomu podmínky úpravy vody.

3.3 Oxidace

V období nárůstu vodního květu často není konvenční úprava pitné vody schopná dosáhnout dostatečné kvality upravené vody a je proto nezbytné přidat do technologické linky úpravy další procesy, například chemickou oxidaci (de la Cruz et al., 2011; USEPA, 2016). Oxidační činidla se obvykle přidávají na začátku úpravy, tedy před koagulací, s cílem dosáhnout tak vyšší účinnosti koagulace – v tom případě hovoříme o předoxidaci (Sharma et

al., 2012; Wang et al., 2013; Xie et al., 2013). Buňky řas a sinic jsou ve vodě poměrně stabilní, což znesnadňuje jejich odstranění. Na stabilitě buněk se podílejí elektrostatické odpuzování, hydrofilní charakter jejich povrchu a stérické interakce. K tomu všemu přispívají organické látky např. EOM a NOM adsorbované na povrchu buněk. Předoxidace je považována za účinnou metodu, kterou lze podpořit koagulaci buněk řas a sinic a AOM, a na úpravách pitné vody je široce používána (Li et al., 2009; Xie et al., 2013).

Běžně používaná oxidační činidla jsou chlor, oxid chloričitý, peroxid vodíku, ozon a manganistan draselný (Westrick et al., 2010; Sharma et al., 2012; Pranowo et al., 2013). Účinnost jednotlivých oxidačních činidel se liší zejména v závislosti na typu oxidované sloučeniny, v tom hraje velkou roli druh řas a sinic a charakter látek, které produkují (Henderson et al., 2008b; Sharma et al., 2012). Potřebnou dávku oxidačního činidla ovlivňují parametry kvality vody jako jsou teplota, pH a celkový organický uhlík (Westrick et al., 2010).

Předoxidace může zvýšit účinnost koagulace, na druhé straně ale může také přispívat k jejímu zhoršení. Zvýšení účinnosti koagulace buněk řas a sinic a jimi produkovaných AOM předoxidací různými činidly zaznamenali Widrig et al., 1996; Ma & Liu, 2002; Chen & Yeh, 2005; Ma et al., 2012b; Pranowo et al., 2013; Wang et al., 2013; Xie et al., 2013. Mezi příčiny zlepšení koagulace buněk řas a sinic a AOM po předoxidaci patří – změna vnější struktury řasových a sinicových buněk, inaktivace buněk, mineralizace organických látek. Dále to může být také uvolňování EOM a/nebo COM s vysokou molekulovou hmotností, které dobře reagují s koagulačními činidly (Ma & Liu, 2002; Ma et al., 2012b; Pranowo et al., 2013; Wang et al., 2013; Načeradská et al., 2017). Předoxidace může zvýšit i účinnost koagulace samotných AOM bez přítomnosti buněk. Načeradská et al., 2017 pozorovali mírné zlepšení koagulační účinnosti (o 5 – 12 %) proteinové složky COM sinice *Microcystis aeruginosa* po předoxidaci manganistanem draselným a současné odstranění až 96 % přítomných microcystinů.

Předoxidace však může koagulaci ovlivnit i negativně. Za určitých podmínek (např. vyšších dávek oxidačních činidel) způsobuje poškození buněk řas a sinic, čímž se uvolňuje COM a zvyšuje se tak množství rozpuštěných organických látek. Navíc může dojít k degradaci přítomných EOM nebo COM na látky s nízkou molekulovou hmotností, které se obtížně koagulují. Dochází také k uvolňování nežádoucích toxinů z buněk sinic a také sloučenin, které nepříznivě ovlivňují chuť a zápach vody (Chen & Yeh, 2005; Ma et al., 2012a; Sharma et al., 2012; Coral et al., 2013; Xie et al., 2013; Načeradská et al., 2017). Dalším negativem předoxidace je, že zvyšuje tvorbu DBPs při závěrečné dezinfekci vody a to zejména v případě použití chloru, oxidu chloričitého nebo ozonu jako předoxidantů (Ma & Liu, 2002; Chen & Yeh, 2005; Ma et al., 2012a; Coral et al., 2013; Xie et al., 2013).

Důležitou roli hraje dávka a druh použitého oxidačního činidla. Např. Wang et al., 2013 při oxidaci EOM sinice *M. aeruginosa* za pomoci manganistanu draselného zjistili, že při nízkých dávkách oxidačního činidla (pod 4 mg/L) si buňky zachovávaly svou integritu a celková koncentrace EOM se snižovala. Jakmile se dávka zvýšila na 6 mg/L a více, docházelo k poškození buněk. Rychlost uvolňování organických látek výrazně převyšovala nad rychlostí jejich degradace, což vedlo k nežádoucímu hromadění organických látek. Podobně Chen & Yeh, 2005 zjistili, že pokud dávka oxidačního činidla (zde též manganistan draselný) nepřekročila určitou hodnotu, zůstaly buňky neporušené. V porovnání s manganistanem draselným dochází např. u oxidace ozonem k uvolňování organických látek z buněk při nižších aplikovaných dávkách. Např. Coral et al., 2013 a Xie et al., 2013 pozorovali ztrátu celistvosti buněk již při dávkách ozonu 0,4 – 0,5 mg/L.

Z výše zmíněných důvodů by bylo vhodnější při použití oxidace k úpravě vody obsahující buňky, odstranit nejprve neporušené buňky řas a sinic koagulací a teprve poté aplikovat oxidační činidlo za účelem odstranění dalších nežádoucích látek (Chen & Yeh, 2005; Miao & Tao, 2009; Westrick et al., 2010; Coral et al., 2013; AWWA, 2015). Konvenční úprava vody koagulací je totiž zpravidla velmi účinná při odstraňování buněk řas a sinic a současně v nich obsažených sinicových toxinů (Henderson et al., 2010; Zhang et al., 2012; Pivokonský et al., 2016; Barešová et al., 2017). Obtížněji se odstraňují buňky některých vláknitých sinic (např. *Aphanizomenon* sp.) a bičíkaté řasy (např. *Rhodomonas minuta*, *Cryptomonas* sp., *Euglena* sp.) (Steynberg et al., 1996; Henderson et al., 2008b; Zamyadi et al., 2013).

Některé studie uvádějí, že je nejvhodnější použít jako předoxidační činidlo manganistan draselný, aby se zabránilo tvorbě vedlejších produktů dezinfekce vody. Jeho použití má totiž minimální vliv na tvorbu DBPs v porovnání s chlorem nebo ozonem. Za prvé proto, že při vhodných dávkách manganistan nezpůsobuje poškození buněk a uvolnění AOM, které mohou při závěrečné dezinfekci vést k tvorbě DBPs. A za druhé proto, že prakticky nevytváří DBPs s organickými látkami (Chen & Yeh, 2005; Xie et al., 2013; Načeradská et al., 2017).

3.3.1 Ozon

Ozon je silné oxidační činidlo a při úpravě pitné vody se běžně používá k odstranění zákalu a nepříjemné chuti a zápachu, k oxidaci kovů, ale také jako dezinfekční činidlo při hygienickém zabezpečení vody (Bose & Reckhow, 2007; Miao & Tao, 2009; Alvarez et al., 2010; de la Cruz et al., 2011). Ozon je ale také velmi účinný při odstraňování cyanotoxinů (Miao & Tao, 2009; Jasim & Saththasivam, 2017). Ve vodě je ozon nestabilní a řetězovou reakcí se rozkládá na celou řadu radikálů, z nichž je nejvýznamnější hydroxylový radikál.

Poločas rozpadu ozonu se pohybuje od několika sekund až po hodiny – vždy závisí na kvalitě vody. Nejvýznamnější roli hraje pH, protože se zvyšující se hodnotou pH se zvyšuje i rychlost rozkladu ozonu (Forni et al., 1982; Staehelin & Hoigne, 1985; Gunten, 2003). V alkalické oblasti pH je totiž rozklad ozonu urychlován hydroxidovými anionty (OH^-) (Rositano et al., 1998; Gunten, 2003). Jakmile jsou ve vodě ve vyšších koncentracích přítomné uhličitanové ionty, nastává inhibice rozkladu ozonu, protože uhličitanové ionty zachytávají volné radikály (Forni et al., 1982; Tomiyasu et al., 1985; Rositano et al., 2001). Jako inhibitory slouží také hydrogenuhličitan a přírodní organické látky (NOM). NOM ale může fungovat i jako promotor rozkladu ozonu (Rositano et al., 2001; Gunten, 2003).

Díky nestabilitě a rozkladu ozonu ve vodě může oxidace ozonem probíhat dvěma způsoby. V kyselější oblasti pH je převažujícím oxidačním činidlem molekulární ozon (O_3) a při alkalických hodnotách pH hydroxylové radikály ($\cdot\text{OH}$). Hydroxylové radikály jsou velmi silným, a navíc neselektivním oxidačním činidlem. Zatímco ozon je selektivní a rychle reaguje například s dvojnými vazbami, deprotonovanými aminy a aktivovanými aromatickými sloučeninami (Gunten, 2003).

Existují také procesy, které podporují rozklad ozonu a zahrnují tak oxidaci vysoce reaktivními OH radikály. Tyto procesy se označují jako AOP (Advanced Oxidation Process) – tedy pokročilé oxidační procesy. Při úpravě pitné vody se používají k oxidaci látek, které molekulární ozon zoxidovat nedokáže (např. některé pesticidy nebo aromatické sloučeniny). Nejčastěji se používá ozon s přídavkem peroxidu vodíku (H_2O_2) nebo v kombinaci s UV zářením (Gunten, 2003; Jasim & Saththasivam, 2017).

V posledních letech stoupl zájem o ozon při úpravě pitné vody zejména v souvislosti s odstraňováním cyanotoxinů (Jasim & Saththasivam, 2017).

3.3.2 Ozonizace

Ozonizace, tedy oxidace s použitím ozonu, je často používanou metodou při podpoře koagulace (Widrig et al., 1996; Ma et al., 2006; Li et al., 2009; Miao & Tao, 2009; Coral et al., 2013; Xie et al., 2013). Studie, které zkoumají kombinaci koagulace a ozonizace se zabývají předozonizací (tedy aplikováním ozonizace před koagulací) (Ma et al., 2006; Chiang et al., 2009; Li et al., 2009; Fan et al., 2013; Xie et al., 2013; Liu et al., 2017; Shi et al., 2019). Je-li ozonizace zařazená po koagulaci (postozonizace), pak obvykle slouží jako dezinfekční krok úpravy vody (Camel & Bermond, 1998; Gunten, 2003; Oh et al., 2003; Ding et al., 2019; Pulicharla et al., 2020). Mnoho studií však zkoumá vliv samotné ozonizace na odstraňování cyanotoxinů (Shawwa & Smith, 2001; Brooke et al., 2006; Miao et al., 2010; Eke et al., 2018).

nebo jiných mikropolutantů (např. pesticidů) (Camel & Bermond, 1998; Rozas et al., 2017; Yaman et al., 2017; Wang & Chen, 2020).

Účinnost ozonizace je obecně závislá na pH, teplotě, dávce ozonu a době kontaktu a na přítomnosti DOC (Camel & Bermond, 1998; Rositano et al., 1998; Health Canada, 2017). Velkou roli zde hraje zejména kvalita surové vody (Widrig et al., 1996; Rositano et al., 2001). Aby byla ozonizace úspěšná, je nezbytné znát vhodné podmínky pro její aplikaci (Coral et al., 2013). Bylo navrženo několik mechanismů, kterými předozonizace podporuje koagulaci: 1) Ozon může snižovat odpuzivé síly mezi částicemi tím, že redukuje organické látky adsorbované na povrchu částic. Tento mechanismus zaznamenali například Li et al., 2009. 2) Ozon zvyšuje množství kyslíkatých funkčních skupin jako je například karboxylová funkční skupina. To podporuje interakci a vznik komplexů s kationty koagulačních činidel nebo s jinými dostupnými kationty (např. s vápníkem). 3) Ozon rozbíjí organokovové komplexy, čímž dochází k tvorbě koagulantů uvnitř systému. 4) Reakce s ozonem může vést k polymeraci organických látek, což vede k agregaci částic prostřednictvím polymerních můstků (Sadrnourmohamadi & Gorczyca, 2015).

Použití ozonizace při úpravě pitné vody má několik výhod: 1) Ozon je schopný rozkládat mnoho různých látek a nevzniká přitom tolik škodlivých vedlejších produktů jako v případě použití chloru. 2) Ozon oxiduje znečišťující látky ve vodě velmi rychle. 3) Ve srovnání s manganistanem draselným ozonizace nevede k druhotnému znečištění (nadměrné koncentrace manganistanu mohou způsobovat problémy v distribuční síti) (Miao et al., 2010). Z hlediska rychlosti oxidace je nejrychlejším oxidačním činidlem právě ozon. Obecný trend je: ozon > peroxid vodíku > HOCl > ClO₂ > manganistan draselný > chlor. Rychlost se ale samozřejmě liší v závislosti na typu oxidované sloučeniny (Sharma et al., 2012). Nicméně ani ozon není zcela bez problémů. Jestliže jsou ve vodě, která je oxidovaná ozonem, přítomné bromidy, vznikají jako vedlejší produkty bromičnany. Ty jsou pro lidské zdraví nebezpečné (Camel & Bermond, 1998; Ma & Liu, 2002; Gunten, 2003; Rodríguez et al., 2007b; Eke et al., 2018). Z toho důvodu je vhodné zjistit potenciál pro tvorbu bromičnanu ještě před použitím předozonizace (AWWA, 2015; Health Canada, 2017).

3.3.2.1 Vliv ozonizace na buňky

Oxidací obecně můžeme změnit povrchové vlastnosti a náboj buněk řas a sinic. To vede ke snazší destabilizaci a agregaci buněk, čímž se zvyšuje účinnost jejich odstranění z vody (Fan et al., 2013a; Sadrnourmohamadi & Gorczyca, 2015). Zvýšenou účinnost odstranění buněk sinic po předozonizaci zaznamenali např. Ma et al., 2006. Vyšší dávky ozonu ale způsobily

poškození buněk a uvolnění nežádoucích COM, které jsou v porovnání s buňkami mnohem hůře odstranitelné (Ma et al., 2006).

Dávka ozonu je tedy naprosto zásadní při snaze zvýšit účinnost odstranění buněk řas a sinic. Nejen ozon, ale i ostatní oxidační činidla mohou porušit strukturu buněk. Ozon a podobně i chlor vykazují vysokou rychlost lýze buněk v relativně krátkém časovém úseku, jak zjistili Fan et al., 2013. Přibližně 50 % sinicových buněk bylo porušeno oxidací dávkou 2 mg/L ozonu již po 5 minutách působení. Dávka 4 mg/L vedla k poškození 70 % a dávka 6 mg/L k poškození 90 % sinicových buněk, opět po 5 minutách kontaktu.

Xie et al., 2013 zkoumali vliv předoxidace na koagulaci řasových a sinicových buněk s použitím ozonu a manganistanu draselného. Sledováním účinků těchto dvou oxidantů na integritu buněk i oni zjistili, že předozonizace poškozuje buněčné stěny a membrány a způsobuje tak uvolňování COM do vody. V případě ozonu ale v mnohem větší míře než u předoxidace s použitím manganistanu. Nicméně i přesto obě činidla zlepšila odstraňování buněk koagulací. Účinnost odstraňování se zvýšila o více než 15 % po oxidaci dávkou 1 mg/L manganistanu draselného. Předozonizace zvýšila odstranění buněk o 14 % při dávce 0,4 mg/L ozonu, o více než 21 % při 1 mg/L a o 23,5 % při 2 mg/L ozonu. Na základě těchto výsledků by se mohlo zdát, že je vhodnější použít vyšší dávky ozonu, protože se tak dosáhne vyšší účinnosti odstranění buněk. Problém je ale v tom, že spolu s rostoucí dávkou ozonu se zvyšují také koncentrace DOC – Xie et al., 2013 zaznamenali zvýšení o téměř 0,5 mg/l DOC při zvýšení dávky ozonu z 0 na 2 mg/L. V důsledku toho také vzrostla tvorba DBPs a to o více než 40 % při 2 mg/L O₃. Oproti tomu použití manganistanu draselného nezměnilo koncentraci DOC po předoxidaci a tvorba DBPs se zvýšila pouze nepatrně. Z těchto důvodů autoři studie navrhli, že předoxidace manganistanem je vhodnějším způsobem k eliminaci řasových a sinicových buněk.

Podobně Liu et al., 2017 zkoumali možnost zvýšit účinnost koagulace za pomoci ozonu, manganistanu a peroxodisíranu železnatého. Také dospěli k závěru, že ozonizace z použitých oxidačních technik nejvíce poškozuje buňky a uvolňuje COM. Kromě toho se mohou uvolňovat také sloučeniny způsobující nepříjemný zápach jako je 2-methylisoborneol (2-MIB) a geosmin (GSM). I jejich výsledky potvrzují, že všechna použitá činidla mohou zlepšit účinnost koagulace. Vzhledem k různým oxidačním potenciálům jednotlivých oxidačních činidel dosáhl nejvyšší účinnosti ozon. V této studii navíc také zkoumali dvě strategie dávkování oxidačního činidla – a) spolu s koagulačním činidlem a b) před koagulačním činidlem. Výsledky ukázaly, že je výhodnější dávkovat oxidant spolu s koagulantem, protože přidání před ním způsobilo větší lýzi buněk.

Ozon ovlivňuje také vlastnosti vznikajících vloček. Protože tvar a velikost vloček má dále vliv na účinnost jejich separace, zkoumali Li et al., 2009 charakter vznikajících vloček po předozonizaci. Zjistili, že existuje optimální dávka ozonu, která vede k vytvoření vloček o určité velikosti. Největší účinnosti separace dosáhli s dávkou ozonu 0,53 mg O₃/mg C, jelikož při této dávce měli vločky nejpriznivější strukturu. Se zvyšující se dávkou ozonu se snižovala velikost vloček a tím klesala účinnost jejich separace sedimentací.

Výsledky všech výše zmíněných studií svědčí o tom, že dávka ozonu hraje významnou roli a je nutné zvolit ji tak, aby nedocházelo k nežádoucímu poškození buněk doprovázenému uvolňováním COM a k následné tvorbě DBPs. Ačkoliv předozonizace může zlepšit koagulaci a odstranit zákal vody (Ma et al., 2006; Li et al., 2009; Xie et al., 2013; Liu et al., 2017), je vhodnější použít spíše nižší dávky ozonu. Vyšší dávky by totiž mohly vést k zhoršení a inhibici koagulace (Rahman et al., 2010). Při předoxidaci buněk se navíc může uvolňovat AOM, které spotřebovávají oxidační činidla a tím se snižuje jejich dostupnost pro podporu koagulace (Sharma et al., 2012; Zhang et al., 2020). To také podporuje skutečnost, že je vhodné zvolit spíše mírný stupeň oxidace k dosažení účinného odstranění řas a sinic (Zhang et al., 2020). Vhodnější by tak pravděpodobně bylo odstranit nejprve neporušené buňky řas a sinic a teprve poté aplikovat oxidační činidlo (Chen & Yeh, 2005; Miao & Tao, 2009; Westrick et al., 2010; Coral et al., 2013; AWWA, 2015).

3.3.2.2 Vliv ozonizace na AOM

Vlivu ozonizace na AOM a případnou následnou koagulaci se věnovalo jen velmi málo studií (Paralkar & Edzwald, 1996; Widrig et al., 1996; Ma et al., 2006). Většina těchto studií se zabývala EOM uvolňovaným během růstu řas a sinic.

Widrig et al., 1996 posuzovali účinnost odstraňování EOM tří druhů řas a sinic – *Microcystis aeruginosa*, *Scenedesmus quadricauda* a *Dictyosphaerium pulchellum* koagulací s předozonizací a bez ní při pH 5 a 8. Samotnou koagulaci chloridem železitým při pH 5 bylo odstraněno pouze 20 %, 25 % a 50 % DOC *Microcystis aeruginosa*, *Scenedesmus quadricauda* a *Dictyosphaerium pulchellum*. Koagulace při pH 8 poskytovala míru odstranění pouze mezi 5 a 10 %. Autoři zjistili, že předozonizace mírně zvyšuje účinnost koagulace DOC. I zde ale hrálo významnou roli pH, druh řasy nebo sinice a dávka koagulantu. Maximálního odstranění DOC bylo dosaženo při nestandardně vysoké dávce koagulantu (2,96 mmol FeCl₃, což odpovídá 165,3 mg/L Fe) při předozonizačním pH 8 a koagulačním pH 5. Účinnost se oproti samotné koagulaci po předozonizaci zvýšila o 15 % pro *S. quadricauda*, o 12 % pro *D. pulchellum* a o 5 % pro *M. aeruginosa*. S nižší dávkou koagulačního činidla (0,3 mmol Fe, což odpovídá 16,75

mg/L Fe), která odpovídá reálně používaným dávkám při úpravě vody, bylo předozonizací za stejných podmínek dosaženo zvýšení účinnosti pouze o 1 % a 2 % pro *S. quadricauda* a *D. pulchellum* a došlo ke snížení účinnosti o 1 % pro *M. aeruginosa* ve srovnání se samotnou koagulací. Pro stanovení účinků oxidace na odstranění DOC prováděli autoři této studie také experimenty s použitím pouze ozonu (za stejných podmínek jaké byly nastaveny v případě ozonizace a následné koagulace). Výsledky ukázaly, že přímá oxidace má nepatrný vliv na odstranění celkového DOC – rozdíl v koncentracích DOC se po aplikování ozonu pohyboval v rozmezí od 0 do 3 %. Ve všech experimentech byla použita dávka ozonu 0,8 mg O₃/mg C.

Podobně Ma et al., 2006 zjistili, že samotná koagulace odstranila jen omezenou část EOM řasy *Oscillatoria amoena*, konkrétně pouhých 29,1 %. Použití předozonizace zlepšilo účinnost koagulace EOM o 6,6 % s dávkou ozonu 1 mg/L a jen o 1,2 % s dávkou ozonu 2 mg/L. Tedy předozonizace s nižší dávkou ozonu byla účinnější. Autoři rozdíl v účinnosti při aplikování dvou různých dávek ozonu vysvětlují dvěma mechanismy. Předozonizace může změnit stabilitu organických látek, čímž se usnadní jejich následná koagulace. Může ale také dojít k přeměně vysokomolekulárních látek na látky nízkomolekulární, které se hůře koagulují. K tomu pravděpodobně došlo v případě oxidace s dávkou ozonu 2 mg/L. Že dochází ke změnám molekulové hmotnosti AOM po ozonizaci zaznamenali např. Wen et al., 2017. Ozonizace AOM sinice *Microcystis aeruginosa* vedla ke snížení podílu vysokomolekulárních látek a naopak vedla ke zvýšení látek s nízkou molekulovou hmotností. To je také v souladu s výsledky Paralkar & Edzwald, 1996, kteří zaznamenali narůstající podíl látek s nižší molekulovou hmotností po ozonizaci EOM z *Cyclotella* sp., *Scenedesmus quadricauda* a *Chlorella vulgaris*.

Z výše zmíněných studií vyplývá, že odstranění AOM s pomocí předozonizace je závislé na pH ozonizace, dávce ozonu, složení a množství AOM a na přítomnosti dalších organických látek. I pro následnou koagulaci je nezbytné zvolit optimální pH a také vhodnou dávku koagulačního činidla.

3.3.2.3 Vliv ozonizace na microcystiny

Konvenční procesy úpravy vody jsou účinné při odstraňování intracelulárních toxinů, tedy toxinů obsažených uvnitř buněk (buněk jsou totiž koagulací zpravidla dobře odstranitelné – viz kapitola 3.2.1 Koagulace AOM). Nedokáží ale účinně odstranit rozpuštěné, extracelulární toxiny (Bandala et al., 2004; Rodríguez et al., 2007a; de la Cruz et al., 2011; USEPA, 2016; Eke et al., 2018). V případě, že dochází k uvolňování toxinů z buněk a jsou tak přítomné zejména v rozpuštěné formě, je potřeba přidat další kroky úpravy jako je například adsorpce na

aktivní uhlí, membránová filtrace nebo chemická oxidace (Alvarez et al., 2010; Westrick et al., 2010; Zamyadi et al., 2013b; USEPA, 2016; Jasim & Saththasivam, 2017). Jako vhodná metoda se jeví chemická oxidace (Hall et al., 2000; Rodríguez et al., 2007a; Sharma et al., 2012; Li et al., 2014).

Obecně nejúčinnějším oxidačním činidlem při odstraňování cyanotoxinů je ozon (AWWA, 2015; Eke et al., 2018). Ten má díky schopnosti účinně degradovat toxiny, zejména microcystiny (Gunten, 2003; de Figueiredo et al., 2004; Miao & Tao, 2009; de la Cruz et al., 2011; Eke et al., 2018), předpoklady k tomu, aby byl na úpravkách používán při problémech s nadměrným růstem sinic, které toxiny produkují (de la Cruz et al., 2011; AWWA, 2015). Vysoká účinnost degradace microcystinů ozonem je dána jeho selektivitou vůči dvojným vazbám a aminovým skupinám přítomných ve struktuře microcystinů, které dokáže snadno oxidovat, navíc i s vysokou rychlostí. Konjugované dvojně vazby přítomné ve skupině Adda jsou příčinnou toxicity microcystinů (Rositano et al., 2001; Gunten, 2003; Rodríguez et al., 2007b; Miao & Tao, 2009; Westrick et al., 2010), takže ozon dokáže snížit a dokonce i zcela eliminovat jejich toxické účinky (de la Cruz et al., 2011; Sharma et al., 2012).

Al Momani et al., 2008 zkoumali degradaci microcystinů MC-LR a MC-RR ozonem a zjistili, že ozonizace je účinnou metodou. Při počáteční koncentraci MC-LR 1 mg/L byl toxin zcela eliminován dávkou ozonu 0,6 mg/L. K úplné degradaci 5 mg/L MC-LR byla aplikovaná dávka ozonu 2,4 mg/L. Pro obě počáteční koncentrace toxinů byla reakční doba kratší než 90 sekund a vždy byl po oxidaci přítomný ještě zbytkový ozon. Podobně vypadají i výsledky pro MC-RR. Počáteční koncentrace toxinu ale byly 1 a 1,5 mg/L. K dosažení více než 99 % účinnosti degradace 1 mg/L MC-RR postačila dávka ozonu 0,7 mg/L a úplné eliminace 1,5 mg/L MC-RR bylo dosaženo s dávkou 1,1 mg/L ozonu. V obou případech se ale jednalo o reakci ozonu s čistými microcystiny. Jelikož se v přírodních vodách toxiny nikdy nevyskytují samostatně, prováděli autoři této studie také ozonizační testy v přítomnosti přírodních organických látek (NOM). Zjistili, že mezi degradací toxinů a přítomností NOM je přímá souvislost. Dochází totiž ke konkurenčním reakcím mezi NOM a microcystiny, čímž se snižuje dostupnost ozonu pro degradaci toxinů. K oxidaci veškerých přítomných toxinů jsou proto potřebné zvýšené dávky ozonu. V přítomnosti 2 mg/L NOM a aplikovanou dávkou ozonu 0,6 mg/L se autorům podařilo dosáhnout degradace 77 % MC-LR a 75 % MC-RR po 90 sekundách oxidace. Autoři pozorovali také silný vliv pH roztoku na oxidační reakce. Se zvyšujícím se pH se snižovala účinnost degradace. Rositano et al., 1998 uvedli, že příčinnou nižší účinnosti rozkladu toxinů v alkalické oblasti pH je nižší oxidační potenciál ozonu. V kyselé oblasti pH je oxidační potenciál ozonu 2,07 V, zatímco v alkalické oblasti pH je 1,24 V. Nižší účinnost ozonu

byla zjištěna již při pH vyšším než 7,5. Tento rozdíl je způsoben tím, že v alkalických podmínkách je snižovaná dostupnost ozonu pro oxidaci toxinů, jelikož je urychlován jeho rozklad přítomností hydroxidových iontů. Shawwa & Smith, 2001 pozorovali, že ozon reagoval s čistým MC-LR mnohem rychleji v kyselé oblasti pH. Při zvyšování pH ze 2 na 7, klesala reakční rychlost úměrně s koncentrací hydroxylových iontů. Ve studii prováděné Al Momani & Jarrah, 2010 byla ozonizace čistých microcystinů také rychlejší v kyselejších pH. Při hodnotách pH vyšších než 9 nebyla degradace MC-LR úplná. Tyto výsledky potvrzují, že microcystiny reagují více s molekulárním ozonem než s hydroxylovými radikály, které se více tvoří při vyšších hodnotách pH. Účinná degradace microcystinů ozonem je způsobena jeho selektivitou, jak již bylo zmíněno výše.

Miao & Tao, 2009 také zjistili, že ozonizace byla účinná při odstraňování toxinů MC-LR a MC-RR produkovaných sinicí *Microcystis aeruginosa*. Ozon rychle zoxidoval oba toxiny s účinností degradace 89 % v případě MC-RR a účinností téměř 96 % v případě MC-LR. Se zvyšující se dávkou ozonu se zvyšovala také účinnost degradace. Aplikované dávky byly 1, 3 a 5 mg/L O₃. Autoři této studie pozorovali stejně jako Al Momani et al., 2008 významný vliv jak buněk, tak z nich uvolněného EOM na účinnost degradace microcystinů. Přítomnost buněk a EOM v roztoku inhibovala rozklad microcystinů v porovnání s experimenty s čistými microcystiny. V přítomnosti sinicových buněk navíc docházelo působením ozonu k buněčné lýzi. Do roztoku se tak uvolňovaly další organické látky spolu s dalšími intracelulárními toxiny. V důsledku toho byla reakce ozonu s microcystiny mnohem pomalejší a bylo dosaženo nižší účinnosti jejich degradace než v případě ozonizace samotných microcystinů. Z toho vyplývá, že přítomnost sinicových buněk a z nich uvolněných organických látek nepříznivě ovlivňuje ozonizaci.

Podobně Shawwa & Smith, 2001 pozorovali, že když se zvýšila koncentrace přírodních organických látek (NOM) z 1 na 5 mg/L DOC, bylo potřeba aplikovat zvýšenou dávku ozonu k degradaci MC-LR pod detekční limit. Když byla hodnota DOC 3 mg/L podařilo se odstranit přibližně 40 % MC-LR při dávce ozonu 0,3 mg/L. Jakmile se ale zvýšila dávka ozonu na 1 mg/L, podařilo se odstranit 95 % MC-LR. Při zvýšení koncentrace DOC na 5 mg/L bylo při 0,3 mg/L ozonu oxidováno pouze 15 % MC-LR a když se dávka ozonu opět zvýšila na 1 mg/L, zvýšilo se odstranění MC-LR na 80 %.

Účinnou degradaci microcystinů ozonem zaznamenali také například Rositano et al., 2001; Brooke et al., 2006; Al Momani & Jarrah, 2010; Miao et al., 2010; Eke et al., 2018 . Kromě dávky ozonu, DOC a pH má na účinnost degradace vliv také teplota. Shawwa & Smith, 2001 a Al Momani & Jarrah, 2010 pozorovali, že se zvýšila rychlostní konstanta oxidační

reakce mezi ozonem a microcystiny při zvýšení reakční teploty. Studie Alvarez et al., 2010 potvrdila, že reakce mezi microcystiny a ozonem jsou závislé na aplikované dávce ozonu, pH a teplotě. Účinnější degradace microcystinů bylo dosaženo při vyšší dávce ozonu, vyšší teplotě a kyselejším pH. Na rozdíl od většiny ostatních studií ale nezaznamenali vliv DOC na účinnost degradace toxinů.

Z výsledků studie prováděné Miao & Tao, 2009 vyplynulo, že účinnost odstranění MC-LR byla vyšší než MC-RR. Stejného výsledku dosáhli i Miao et al., 2010. Možným vysvětlením je rozdílný prostorový sterický účinek. U MC-RR může totiž přítomnost dvou skupin Arg (arginin) s vyšší molekulovou hmotností bránit snadnému napadení molekuly ozonem. To ukazuje, že struktura toxinu hraje významnou roli (Rositano et al., 2001; AWWA, 2015). Například Rodríguez et al., 2007b zjistili, že ozon reaguje s cyanotoxiny v pořadí: microcystin-LR > cylindrospermopsin > anatoxin. Nejméně účinný je vůči saxitoxinům (Rositano et al., 2001; Newcombe & Nicholson, 2004).

Obecně ozon dokáže toxiny odstranit účinněji než chlor, manganistan draselný a peroxid vodíku. Ještě účinnější je ale ozon v kombinaci s peroxidem vodíku (Rositano et al., 1998; Sharma et al., 2012; AWWA, 2015).

4 Experimentální část

Experimentální část práce je rozdělena do několika dílčích pokusů. První část zahrnuje koagulační testy, jejichž cílem bylo nalézt optimální hodnoty pH a dávky koagulačních činidel, při kterých se dá dosáhnout nejvyšší účinnosti odstranění COM sinice *Microcystis aeruginosa*. Druhá část zahrnovala pouze ozonizační testy. Zkoumala se účinnost samotného ozonu na odstranění COM při třech různých hodnotách pH 5, 7 a 9. Následující části se sestávaly z kombinace těchto dvou procesů a zahrnovaly ozonizaci zařazenou před koagulaci – předzonizaci a po koagulaci – postozonizaci. Současně byly ve všech vzorcích sledovány koncentrace microcystinů.

4.1 Příprava COM sinice *Microcystis aeruginosa*

Jako organický materiál byly v práci použity celulární organické látky (COM) sinice *Microcystis aeruginosa*. Ta je jednou z běžně se vyskytujících sinic ve vodních nádržích po celém světě, která navíc produkuje škodlivé toxiny (zejména microcystiny) (de Figueiredo et al., 2004; Dyble et al., 2008; Zamyadi et al., 2013).

Vzorky sinicového vodního květu byly odebrány 26. 7. 2018 z vodárenské nádrže Švihov na řece Želivce, která slouží jako zdroj pitné vody pro Středočeský kraj a Prahu. Odběr

sinicového květu byl prováděn z profilu 0 – 30 cm prostým odběrem masy vodního květu do odběrných nádob. Následně byly vzorky procezeny přes nerezové síto s velikostí ok 0,1 mm, aby se tak odstranily hrubé nečistoty. Buňky sinice byly z vody separovány odstředěním po dobu 5 minut při 2000 otáčkách za minutu (centrifuga MPW 351, MPW MED. Instruments). Mikroskopickým rozbořem bylo zjištěno, že v odebraném vodním květu bylo kvantitativní zastoupení sinice *Microcystis aeruginosa* přibližně 95 %. Zbýlý podíl byl tvořen zejména sinicemi *Microcystis wesenbergii* a *Dolichospermum (Anabaena) flos-aquae*.

Buňky separované odstředěním byly smíchány s demineralizovanou vodou a následně byla s použitím ultrazvuku porušena jejich struktura, aby se mohly uvolnit celulární organické látky (COM). Ultrazvuku byly buňky vystavené po dobu 5 minut při výkonu 240 W a frekvenci 20 kHz (UP400S, Hielscher Ultrasonics, Německo). Poté byl materiál zamrazen na teplotu -18°C a po následném rozmrazení proces rozrušení buněk pomocí ultrazvuku ještě jednou opakován.

V závěrečném kroku byly rozpuštěné COM separovány od pevných zbytků buněk pomocí membránového filtru o velikosti 0,45 µm (Millipore, USA). Takto získaný materiál byl zamrazen a uchováván při -50°C. Před zamražením byla materiálu COM změřena koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC), koncentrace microcystinů a distribuce molekulové hmotnosti (molecular weight – MW).

4.2 Koagulační testy

Ke koagulačním testům posloužila sklenicová optimalizační zkouška. Ta byla prováděna pomocí osmimístné míchací kolony s dvoulitrovými sklenicemi kruhového průřezu a nastavitelnou dobou a rychlostí míchání. Testy sloužily k zjištění optimální dávky koagulačního činidla a pH koagulace. Zjištěná optimální dávka a hodnoty pH pak byly používány v průběhu celého experimentu – i při testech zahrnujících ozonizaci. Jako koagulační činidla byly použity 1% roztoky síranu hlinitého ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18 \text{H}_2\text{O}$; Sigma Aldrich, USA) a/nebo síranu železitého ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$; Sigma Aldrich, USA). Právě soli železa a hliníku jsou jedny z nejčastěji používaných koagulantů při úpravě vody (Načeradská et al., 2019b). Železitá a hlinitá činidla mohou vykazovat rozdílné účinnosti při odstraňování organických látek z vody (Pivokonský et al., 2009a), proto byly v této práci používány oba typy činidel. Při optimálních podmínkách koagulace je dosaženo maximálního odstranění COM a zároveň zbytkové koncentrace hliníku (Al) a železa (Fe) splňují limit pro pitnou vodu, který je 0,2 mg/L (Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody).

Jako surová voda pro koagulační testy sloužila demineralizovaná voda, které byla upravena kyselinová neutralizační kapacita $\text{KNK}_{4,5}$ na 1 mmol/L pomocí 0,125 M NaHCO_3 , a do které bylo dávkováno takové množství COM *Microcystis aeruginosa*, aby výsledná koncentrace byla 10 mg/L DOC. Po nalití surové vody do jednotlivých sklenic míchací kolony bylo pomocí 0,1 M HCl a 0,1 M NaOH upraveno pH vody tak, aby byla vytvořena škála výsledných hodnot koagulačního pH mezi 4 a 9. Množství kyseliny nebo zásady, které bylo dávkováno k dosažení cílové hodnoty pH, bylo předem zjištěné titrací. Po předúpravě pH bylo přidáno koagulační činidlo (síran hlinitý nebo síran železitý) a na koloně bylo spuštěno míchání na stanovenou dobu. Testované dávky koagulačních činidel pro optimalizaci se pohybovaly v rozsahu 0,1 – 0,5 mmol/L Al nebo Fe (tzn. 2,7 – 13,5 mg/L Al ~ 0,27 – 1,35 mg Al na mg DOC; 5,6 – 28,0 mg/L Fe ~ 0,56 – 2,80 mg Fe na mg DOC).

Samotný experiment probíhal tak, že kolona byla nastavena na 1 minutu rychlého homogenizačního, po kterém následovalo 15 minut pomalého agregačního míchání. U sklenic s hlinitým koagulantem byly nastaveny rychlosti míchání na 105 rpm (smyková rychlost $G = 200 \text{ s}^{-1}$) a následujících 15 minut při 36 rpm (smyková rychlost $G = 40 \text{ s}^{-1}$). U železitého koagulantu byly nastaveny vyšší rychlosti a to 137 rpm ($G = 300 \text{ s}^{-1}$) a 67 rpm ($G = 100 \text{ s}^{-1}$). Rozdílná rychlost míchání pro hlinitý a železitý koagulant byla nastavena z toho důvodu, že bylo zjištěno, že železitý koagulant tvoří s COM výrazně větší vločky než koagulant hlinitý (Filipenska et al., 2019). Zvolenými rychlostmi míchání byly vytvořeny dostatečně velké a kompaktní vločky vhodné pro separaci sedimentací i odstředováním.

Po ukončení míchání byly vzniklé vločky odstraněny sedimentací anebo odstředěním. Ihned po skončení míchání se z koagulačních sklenic část vzorku odlila na odstředění a zbytek se nechal sedimentovat po dobu 60 minut. Odstředění proběhlo při 3000 rpm po dobu 20 minut (centrifuga MPW 351, MPW MED. Instruments), což simuluje filtraci na úpravnách pitné vody. Tyto dvě separační metody byly při počátečních koagulačních experimentech porovnány a v průběhu celého experimentu pak bylo používáno odstředění, jelikož bylo mírně účinnější.

V supernatantech se poté měřilo pH, kyselinová neutralizační kapacita – $\text{KNK}_{4,5}$, zbytkové koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC) a zbytkové koncentrace koagulačních činidel (Al a Fe). U vzorků, které byly připraveny za optimálních podmínek koagulace, se sledovala také distribuce molekulové hmotnosti a koncentrace microcystinů.

4.3 Ozonizační testy

Cílem ozonizačních testů bylo zjistit, zda samotná oxidace ozonem může snížit koncentrace COM sinice *M. aeruginosa* ve vzorku a do jaké míry. Byla také zkoumaná doba

rozkladu ozonu v přítomnosti a nepřítomnosti COM. Všechny ozonizační experimenty probíhaly při různých hodnotách pH – pH ozonizace 5, 7 a 9. Různé hodnoty pH byly testované proto, že reakční mechanismus ozonu je na pH závislý, jak bylo popsáno výše (kapitola 3.3.1 Ozon) (Forni et al., 1982; Staehelin & Hoigne, 1985; Gunten, 2003).

Vzorky surové vody pro ozonizační testy byly připraveny stejným způsobem jako v případě koagulačních testů (kapitola 4.2 Koagulační testy). Tedy jako surová voda posloužila opět demineralizovaná voda s přidavkem 0,125 M NaHCO₃ (výsledná KNK_{4,5} = 1 mmol/L) a COM *M. aeruginosa* (koncentrace DOC = 10 mg/L). Vzorkům surové vody bylo následně upraveno pH na hodnoty 5, 7 a 9 přidáním předem stanovených množství 0,1 M HCl nebo 0,1 M NaOH. K takto připraveným vzorkům byl dávkován zásobní roztok ozonu. U experimentů, kdy byla sledována doba rozkladu ozonu bez přítomnosti COM, byla použita pouze demineralizovaná voda s přidavkem 0,125 M NaHCO₃ a upraveným pH na hodnoty 5, 7 a 9.

Zásobní roztok ozonu byl získáván za pomoci laboratorního generátoru ozonu (Ozontech, s.r.o., Česká republika) (Obr. 2). K přípravě zásobního roztoku v ozonizátoru posloužila opět demineralizovaná voda. Ta byla ozonizátorem čerpána z barelu a následně sycena ozonem. Koncentrace ozonu v zásobním roztoku se pohybovala od 15 do 30 mg/L O₃. Zásobní roztok ozonu byl z přístroje vždy odebírán po 15 minutách od začátku ozonizace a byl ihned přidáván ke vzorkům. Vždy bylo tedy pracováno s čerstvě připraveným zásobním roztokem ozonu.

K surové vodě do jednolitrových skleněných odměrných baněk bylo přidáváno takové množství zásobního roztoku ozonu, aby výsledné koncentrace byly 1, 2, 4, 8 a 10 mg/L O₃ (~ 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 a 1 mg O₃/mg DOC). Současně s přidáním roztoku ozonu ke vzorkům byla kontrolována koncentrace ozonu v zásobním roztoku pomocí metody popsané níže. Bezprostředně po přidání vody s ozonem byly baňky uzavřeny víčkem, aby nedocházelo k unikání plynného ozonu, a promíchány. Následně byly uzavřené baňky ponechány 30 minut na třepačce při 75 otáčkách·min⁻¹.



Obr. 2: Laboratorní generátor ozonu (Ozontech, s.r.o., Česká republika). (Foto: autorka)

Koncentrace rozpuštěného ozonu v zásobním roztoku a také zbytkové koncentrace ozonu ve vzorcích byly stanoveny standardní kolorimetrickou metodou 4500 – O₃ (Baird et al., 2017) s použitím indiga (trisulfonátu draselného) podle vzorce (1). Ozon oxidačně intenzivně modré indigo, čímž dochází k odbarvení roztoku. Mění se tedy absorbance roztoku – její úbytek je lineárně závislý na koncentraci ozonu. Čím větší je úbytek absorbance, tím vyšší je koncentrace ozonu ve vzorku. Absorbance byla měřena na UV – VIS spektrofotometru 8453A (Agilent Technologies, USA) při vlnové délce 600 nm v 5 cm kyvetě.

$$O_3 = \frac{100 * \Delta A}{f * b * V} [mg \cdot l^{-1}] \quad (1)$$

- ΔA je rozdíl absorbancí vzorku, jehož koncentraci O₃ chceme zjistit a slepého vzorku
- f je přepočtový faktor rovný hodnotě 0,42
- b je délka měrné kyvety [cm]
- V je objem vzorku vody s obsahem ozonu [mL]

Kromě koncentrací ozonu byly ve vzorcích měřeny také zbytkové koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC) a koncentrace microcystinů. Sledována byla také distribuce molekulové hmotnosti (MW).

4.4 Předozonizace

Předozonizační testy zahrnovaly aplikování různých dávek ozonu (1, 2, 4; 7,5 a 10 mg/L O₃, tedy 0,1; 0,2; 0,4; 0,75 a 1 mg O₃/mg DOC) při třech různých hodnotách pH ozonizace 5, 7 a 9 před optimalizovanou koagulací, aby bylo možné vyhodnotit vliv předúpravy ozonem na účinnost koagulace COM sinice *M. aeruginosa*. Jednalo se tedy o kombinaci dvou výše popsaných procesů – ozonizace a následné koagulace (kapitoly 4.3 a 4.2) (ozonizace – koagulace).

Po ozonizaci, která probíhala tak, jak je popsáno v kapitole 4.3 Ozonizační testy, byly vzorky COM s ozonem přelity do 2L sklenic míchací kolony. Před spuštěním míchání bylo vzorkům upraveno pH tak, aby bylo dosaženo optimálního pH koagulace a docílilo se tak maximálního odstranění organických látek. Teprve po úpravě pH byla přidána optimální dávka koagulačního činidla (síranu hlinitého nebo síranu železitého) a následně se spustila sklenicová optimalizační zkouška. Ta probíhala stejným způsobem, který je popsán u samotné koagulace v kapitole 4.2 Koagulační testy. Optimální hodnoty pH a dávky koagulačního činidla byly zjištěny z předcházejících koagulačních testů (viz kapitola 5.1 – Výsledky koagulačních testů).

Po dokončení sklenicové optimalizační zkoušky bylo vzorkům změřeno pH, pro kontrolu toho, že koagulace proběhla za optimálních podmínek. Následně byly vzorky odstředěny při 3000 rpm po dobu 20 minut (centrifuga MPW 351, MPW MED. Instruments). V supernatantech se opět měřily zbytkové koncentrace rozpuštěných organických látek (DOC), zbytkové koncentrace Al nebo Fe a koncentrace microcystinů. Dále byla ve vzorcích sledována distribuce molekulové hmotnosti (MW) organických látek.

4.5 Postozonizace

V případě postozonizačních testů byla ozonizace zařazena až po optimalizované koagulaci (koagulace – ozonizace). Cílem bylo zjistit, zda a do jaké míry se bude účinnost odstranění COM po použití ozonizace zvyšovat. Výsledky z obou procesů (ozonizace – koagulace a koagulace – ozonizace) jsou v práci porovnány, je vyhodnoceno, zda přispívají ke zvýšení či snížení účinnosti odstranění COM a jakou měrou.

Jako první byla v případě postozonizačních testů provedena sklenicová optimalizační zkouška za optimálních podmínek. Po ukončení míchání byl celý objem vzorku odstředěn

(3000 rpm, 20 minut), za účelem odstranění vloček vytvořených srážením organických látek s koagulačním činidlem (síranem hlinitým nebo síranem železitým). Poté bylo třem vzorkům upraveno pH na hodnoty 5, 7 a 9 (tedy pH ozonizace) stejným způsobem jako v případě samotné ozonizace či ozonizace – koagulace. V případě koagulace – ozonizace byl ale přidán ještě jeden vzorek, kterému nebylo pH neupraveno a zůstala jeho hodnota po optimalizované koagulaci. Následně byl ke vzorkům dávkován zásobní roztok ozonu. Aplikované dávky ozonu byly 2,5; 5; 7,5; 10 a 14 mg/L O₃ (~ 0,25; 0,5; 0,75; 1 a 1,4 mg O₃/mg DOC), přičemž 14 mg/L O₃ byla maximální dávka, kterou bylo možné použít. Uzavřené baňky se vzorky po ozonizaci byly ponechány 30 minut na třepačce při 75 otáčkách·min⁻¹.

Sledované parametry byly stejné jako v případě předozonizace. Rozdíl byl jen v tom, že zbytkové koncentrace DOC a Al/Fe byly měřeny i po samotné koagulaci.

4.6 Metody měření

4.6.1 Stanovení pH, KNK_{4,5} a koncentrace Al/Fe

Hodnota pH byla měřena potenciometricky přístrojem Accumet AB15 plus (Fisher Scientific, USA) s elektrodou Blue Line 13 pH. KNK_{4,5} – kyselinová neutralizační kapacita byla stanovena titrací 0,1 M HCl. Bod ekvivalence byl určen za pomoci acidobazického indikátoru methylovaný (Horáková et al., 2003). Koncentrace Al/Fe byly měřeny vždy v odstředěných vzorcích analyzátozem ICP-OES – Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (5110 Series, Agilent Technologies, USA).

4.6.2 Stanovení koncentrace rozpuštěného organického uhlíku

Koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC) byly měřeny analyzátozem TOC – V_{CPH} (Shimadzu Corporation, Japonsko) jako rozdíl obsahu celkového uhlíku – TC (Total Carbon) a anorganického uhlíku – IC (Inorganic Carbon). Použité kalibrační standardy byly hydrogenftalát draselný pro stanovení TC a hydrogenuhlíčan sodný a uhličitán sodný pro stanovení IC. Jako kontrolní vzorky sloužily standardy TC a IC o koncentraci 5 mg/L. Slepým vzorkem byla demineralizovaná voda.

4.6.3 Stanovení molekulových hmotností

Rozdělení vzorku COM podle molekulových hmotností (MW) na jednotlivé frakce bylo provedeno odstředěním (4000 otáček·min⁻¹, T = 40 min, v ledové lázni) přes filtry Amicon Ultra – 15 s hodnotami NMWL (Nominal Molecular Weight Limit) 100, 50, 30, 10 a 3 kDa. Po průchodu filtry byl vzorek COM rozdělen na frakce o velikosti molekul >100 kDa, 50 – 100 kDa, 30 – 50 kDa, 10 – 30 kDa, 3 – 10 kDa a <3 kDa. Distribuce MW byla vyjádřena jako DOC

každé frakce a na základě znalosti počáteční koncentrace DOC vzorku bylo vypočítáno jejich procentuální zastoupení (Pivokonský et al., 2014).

Dále byly také stanoveny zdánlivé MW vysokotlakou vylučovací chromatografií HPSEC – High Pressure Size Exclusion Chromatography. Použity byly dva detektory – detektor diodového pole (DAD – Diode Array Detector) (Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies, USA) a detektor indexu lomu (RID – Refractive Index Detector) (Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies, USA). DAD byl provozován při vlnové délce 280 nm, což je typická vlnová délka pro detekci proteinů (Pivokonský et al., 2009a; 2015). Systém byl kalibrován pomocí standardní směsi proteinů (BEH450, Waters Corporation, USA) s rozsahem MW 244 Da až 1400 kDa. Ke kalibraci RID byly použity standardy polyethylenglykol/polyethylenoxid (EasiVial PEG/PEO, Agilent, USA) s rozsahem MW 106 Da až 1258 kDa. Před samotnou analýzou HPSEC byly všechny vzorky zakoncentrovány na vakuové rotační odparce (23°C; 1,9 kPa) (Laborota 4002 HB/G1, Heidolph Instruments, Německo) a to 10krát v případě vzorků po ozonizaci a 20krát v případě vzorků po koagulaci, ozonizaci – koagulaci a koagulaci – ozonizaci.

4.6.4 Stanovení koncentrace microcystinů

Koncentrace microcystinů změřili pracovníci Laboratoře environmentální biotechnologie Mikrobiologického ústavu AV ČR, v. v. i. Vzorky COM byly testovány z hlediska obsahu následujících šesti variant microcystinů: MC-LF, MC-LR, MC-LW, MC-LY, MC-RR, MC-YR. Všechny tyto kongenery microcystinů byly ve vzorku surových COM detekovány a byly monitorovány v průběhu experimentů používajících koagulaci, ozonizaci, ozonizaci – koagulaci a koagulaci – ozonizaci. Všechny vzorky, ve kterých byly měřeny koncentrace microcystinů, byly před analýzou zahuštěny, a to 10krát v případě vzorků po ozonizaci a 20krát v případě vzorků po koagulaci, ozonizaci – koagulaci a koagulaci – ozonizaci.

Koncentrace byly stanoveny kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC – MS/MS) za použití systému Nextera HPLC (Shimadzu, Japonsko) spojeného s hmotnostním spektrometrem Qtrap 4500 (Sciex, USA). Separace toxinů průtokovou chromatografií (LC) proběhla za pomoci kolony Luna Omega 3 µm Polar C18 (150 x 2,1 mm). Mobilní fázi tvořila voda obsahující 0,1 % (V/V) kyselinu mravenčí (A) a acetonitril obsahující 0,1 % (V/V) kyselinu mravenčí (B). Ke zpracování dat byl použit software Analyst (verze 1.6.3). Před analýzou byly vzorky opět zahuštěny, stejně jako v případě analýz HPSEC. Dále byly zahuštěné vzorky sušené pomocí SpeedVac Concentrator Plus (Eppendorf,

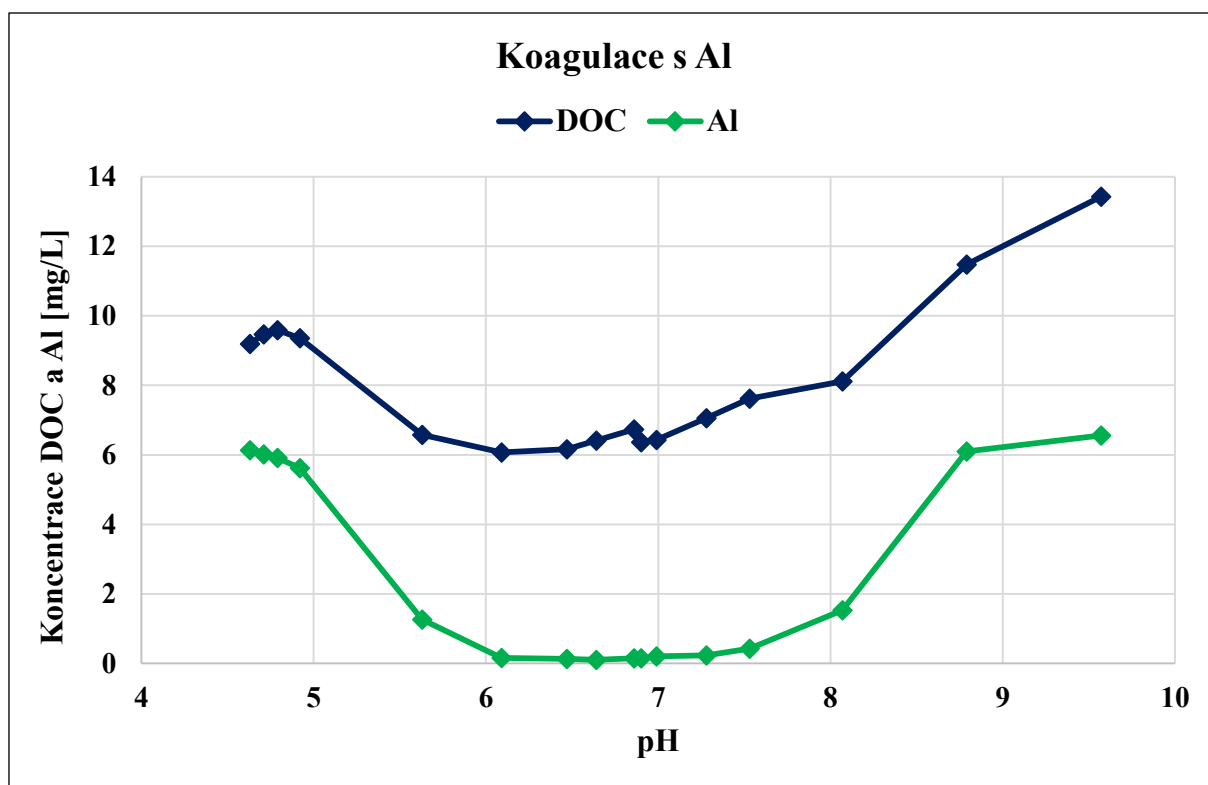
Německo) a ve vodě obsahující 0,1 % (V/V) kyselinu mravenčí opět obnoveny. Limity detekce (LOD) pro MC-LF, MC-LR, MC-LW, MC-LY, MC-RR, MC-YR byly 1,0; 1,0; 2,0; 0,8; 0,5 a 1,0 µg/L. A limity kvantifikace (LOQ) byly 3,0; 1,5; 4,0; 1,0; 2,0 a 2,0 µg/L. Prezentované výsledky jsou zpětně vypočítané aritmetické průměry se směrodatnými odchylkami, které odpovídají skutečným koncentracím DOC vzorků (tzn. před jejich zahuštěním).

5 Výsledky a diskuze

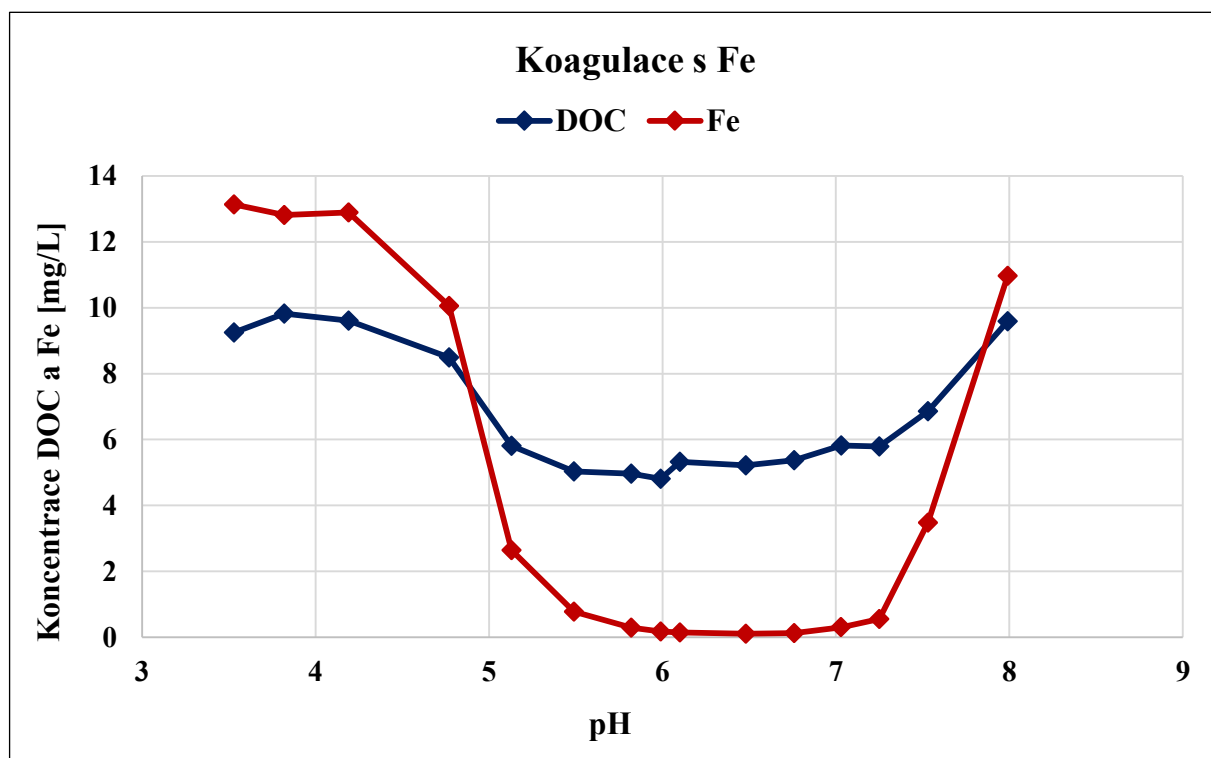
5.1 Výsledky koagulačních testů

Ze sklenicových optimalizačních zkoušek vyplynulo, že nejvhodnější dávky koagulačních činidel byly 6,5 mg/L (0,24 mmol/L, tzn. 0,024 mmol na mg DOC) hliníku (Obr. 3) a 13,6 mg/L (0,24 mmol/L, tzn. 0,024 mmol na mg DOC) železa (Obr. 4) pro počáteční koncentraci DOC 10 mg/L. Z hlediska počtu reagujících částic byly optimální dávky Al i Fe v případě koagulace síranem hlinitým i síranem železitým identické, což vyplývá z molárních koncentrací. Právě s těmito dávkami bylo dosaženo nejvyšších účinností odstranění DOC 38 – 44 % a 44 – 50 % pro síran hlinitý a síran železitý. Optimální pH bylo v rozmezí 6 – 7 pro obě koagulační činidla – v případě Al bylo optimum blíže hodnotě 7 a u Fe naopak blíže hodnotě 6. V této oblasti pH splňovaly zbytkové koncentrace Al/Fe limit pro pitnou vodu 0,2 mg/L daný Vyhláškou č. 252/2004 Sb.

Odstraňování organických látek koagulací je silně závislé na pH (Pivokonský et al., 2012). Jak látky obsažené ve vzorku COM, tak produkty hydrolýzy hliníku a železa nesou náboj, který se mění právě v závislosti na pH. Z toho důvodu byly sklenicové optimalizační zkoušky prováděné při různých hodnotách pH a na obrázcích 3 a 4 jsou proto průběhy koncentrací DOC a Al/Fe znázorněny jako funkce pH. Zvýšení dávek koagulačních činidel nevedlo ke zvýšení účinnosti odstranění COM sinice *M. aeruginosa* a způsobilo, že zbytkové koncentrace Al a Fe byly nad limitem 0,2 mg/L.



Obr. 3: Průběh zbytkových koncentrací rozpuštěných organických látek (DOC) a hliníku v závislosti na pH po koagulaci s optimální dávkou síranu hlinitého. Počáteční koncentrace DOC = 10 mg/L a dávka hliníku 6,5 mg/L.



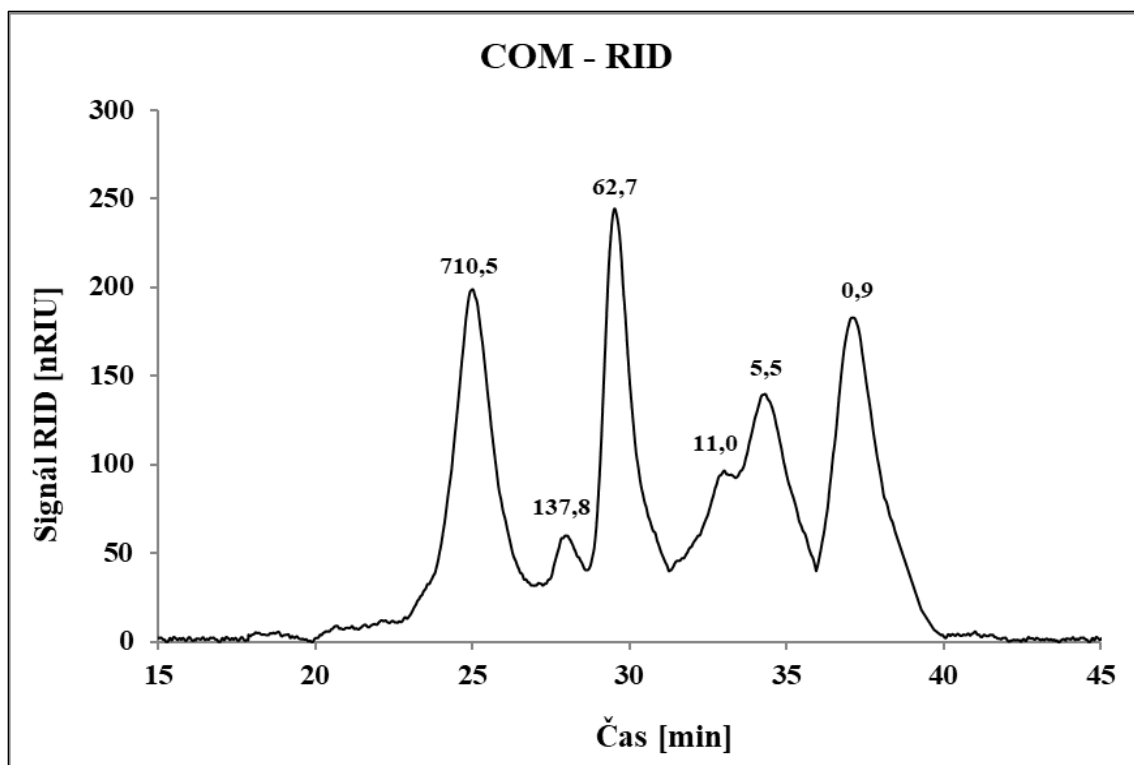
Obr. 4: Průběh zbytkových koncentrací rozpuštěných organických látek (DOC) a železa v závislosti na pH po koagulaci s optimální dávkou síranu železitého. Počáteční koncentrace DOC = 10 mg/L a dávka železa 13,6 mg/L.

Podobně nízké účinnosti odstranění COM sinice *Microcystis aeruginosa* zaznamenali Pivokonský et al., 2009a. S použitím síranu hlinitého a síranu železitého jako koagulačních činidel dosáhli nejvyšších účinností odstranění COM 41 % a 50 % dávkou Al 0,021 mmol/mg DOC a dávkou Fe 0,042 – 0,071 mmol/mg DOC. V obou případech byly ale zbytkové koncentrace Al i Fe vyšší než limit 0,2 mg/L daný Vyhláškou č. 252/2004 Sb. Při nižších dávkách činidel, které vedly k nepřekročení limitu zbytkového Al a Fe, byly účinnosti jen 17 % a 43 %. Také Pivokonský et al., 2009b s použitím síranu železitého dosáhli podobně nízké koagulační účinnosti COM s počáteční koncentrací DOC 7 mg/L a to okolo 50 %. Této účinnosti bylo dosaženo při poměrně vysokých dávkách síranu železitého mezi 18 a 28 mg/L Fe (0,32 – 0,50 mmol/L, tzn. 0,046 – 0,072 mmol Fe na mg DOC). Použití takto vysokých dávek koagulačního činidla vedlo k vysokým koncentracím zbytkového železa v rozmezí 1 – 3 mg/L. V případě, kdy Pivokonský et al., 2009b použili nižší počáteční koncentraci DOC 3 mg/L, dosáhli účinnosti odstranění okolo 42 % aplikováním 9 – 18 mg/L Fe (0,16 – 0,32 mmol/L, tzn. 0,053 – 0,107 mmol Fe na mg DOC). I tyto dávky Fe poskytovaly zbytkové koncentrace Fe nad limitem daným Vyhláškou č. 252/2004 Sb. a to 0,2 – 0,8 mg/L. Optimální rozmezí pH se pro obě koncentrace DOC (3 i 7 mg/L) pohybovala od 4,5 do 6,5. V obou výše jmenovaných studiích byly dosaženy účinnosti odstranění COM srovnatelné s touto prací za použití vyšších dávek činidel a pouze za současných vysokých koncentrací zbytkového Al a Fe. To bylo pravděpodobně způsobeno rozdílným postupem optimalizace procesu koagulace ve srovnání s touto diplomovou prací. Výsledky srovnatelné s touto prací pak získali Barešová et al., 2017 pro koagulaci COM sinice *Merismopedia tenuissima* síranem železitým. Ti dosáhli maximální účinnosti odstranění COM 43 – 53 % při pH 5,1 – 6,4 a dávce 0,018 mmol Fe na mg DOC za současného dodržení limitu pro zbytkové Fe. Z výsledků výše zmíněných studií se dá usuzovat, že COM se koagulací nejlépe odstraňuje při kyselých hodnotách pH. I v případě výsledků v této práci se optimální oblast pH vyskytovala v mírně kyselé až neutrální oblasti (6 až 7 pro Al i Fe koagulant). Základním mechanismem odstraňování organických látek při koagulaci za těchto podmínek je pravděpodobně nábojová neutralizace, kdy dochází k elektrostatickým interakcím mezi kladně nabitými produkty hydrolýzy Al a/nebo Fe (ve formě hydroxopolymerů, případně koloidních sraženin hydratovaných oxidů) a záporně nabitými funkčními skupinami COM (Pivokonský et al., 2016).

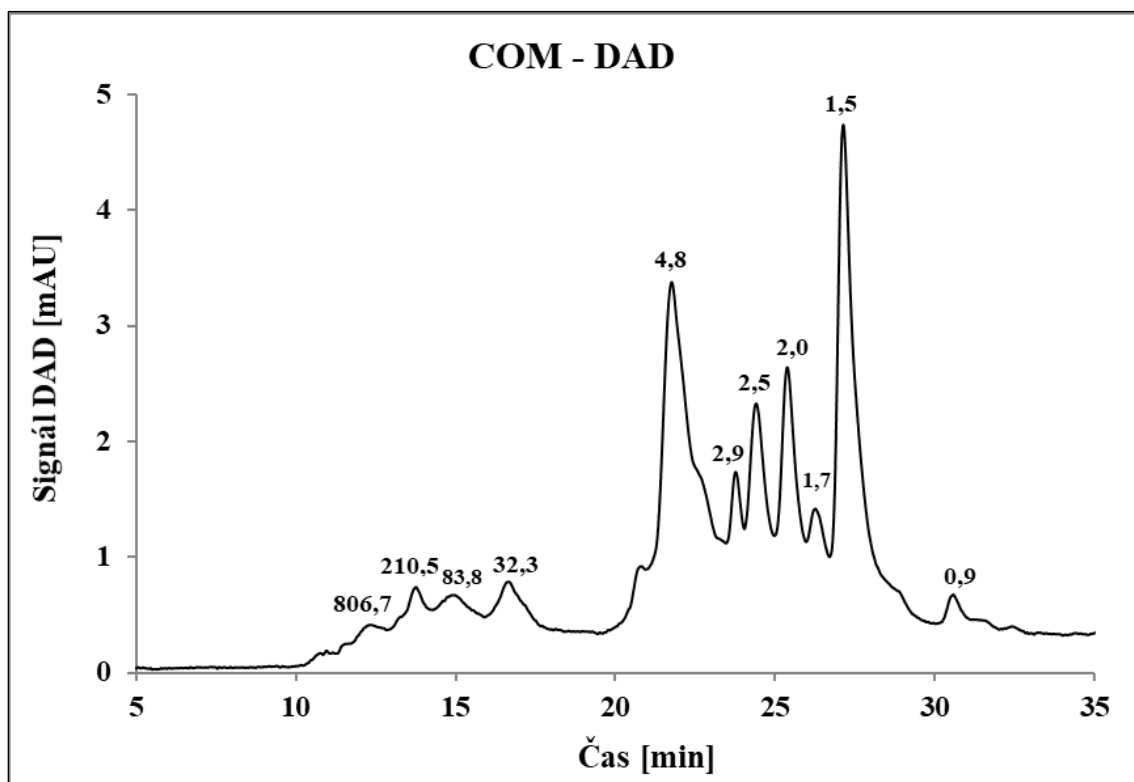
Některé studie zkoumaly jednotlivé složky COM samostatně – tedy sledovaly zvlášť koagulační účinnosti proteinové a neproteinové složky COM (Pivokonský et al., 2012, 2015; Načeradská et al., 2019a). Zjistily, že zatímco proteinová složka se lépe odstraňuje při kyselých hodnotách pH (4 – 6 pro síran železitý a 5 – 6,7 pro síran hlinitý) (Pivokonský et al., 2012,

2015), pro koagulaci neproteinové složky je vhodnější neutrální až alkalická oblast pH (6,6 – 8 pro síran hlinitý a 7,5 – 9 pro polyaluminium chlorid) (Načeradská et al., 2019a). Neproteinová složka se navíc odstraňuje s nižší účinností (okolo 20 %) než složka proteinová (60 – 85 %). Byl také pozorován mírný rozdíl mezi optimálním pH při koagulaci s hlinitými a železitými činidly (Pivokonský et al., 2009a; Šafaříková et al., 2013). To je pravděpodobně způsobeno tím, že produkty hydrolýzy Al/Fe mají rozdílnou distribuci při různých hodnotách pH (Šafaříková et al., 2013; Načeradská et al., 2019b). Výsledky této diplomové práce neprokázaly, že by se statisticky významně lišilo optimální pH pro Al a Fe koagulant. Nicméně byl zaznamenán rozdíl v účinnostech odstranění COM mezi Al a Fe. Koagulační účinnost s použitím síranu železitého byla vyšší než u síranu hlinitého. Obě tato tvrzení byla potvrzena na 5 % hladině významnosti dvouvýběrovým t-testem. Widrig et al., 1996, kteří zkoumali odstranění EOM tří druhů řas a sinic (*Microcystis aeruginosa*, *Scenedesmus quadricauda* a *Dictyosphaerium pulchellum*) pomocí chloridu železitého a síranu hlinitého také zjistili, že při koagulačním pH 5 byl chlorid železitý účinnější než síran hlinitý, přibližně o 5 %. I ve studii Pivokonský et al., 2009a dosahoval síran železitý vyšší účinnosti odstranění COM než síran hlinitý (přibližně o 10 %). Podobně i při koagulaci buněk sinice *Microcystis aeruginosa* byla zjištěna vyšší účinnost koagulace při použití železitého koagulantu ve srovnání s koagulantem hlinitým (Gonzalez-Torres et al., 2014). Rozdílné účinnosti mohou být způsobeny tím, že železité koagulanty tvoří větší a silnější agregáty než koagulanty na bázi hliníku (Jarvis et al., 2012; Bubáková et al., 2013; Gonzalez-Torres et al., 2014). Např. Matilainen et al., 2005 připisovali vyšší účinnost odstranění přírodních organických látek (NOM) síranem železitým vyšší hustotě vzniklých vloček při nízké teplotě a malém zákalu. I několik dalších studií zkoumajících účinnost odstraňování NOM dospělo k závěru, že koagulanty na bázi železa odstraňují NOM lépe než ty na bázi hliníku (Bell-Ajy et al., 2000; Lovins et al., 2003; Jarvis et al., 2012).

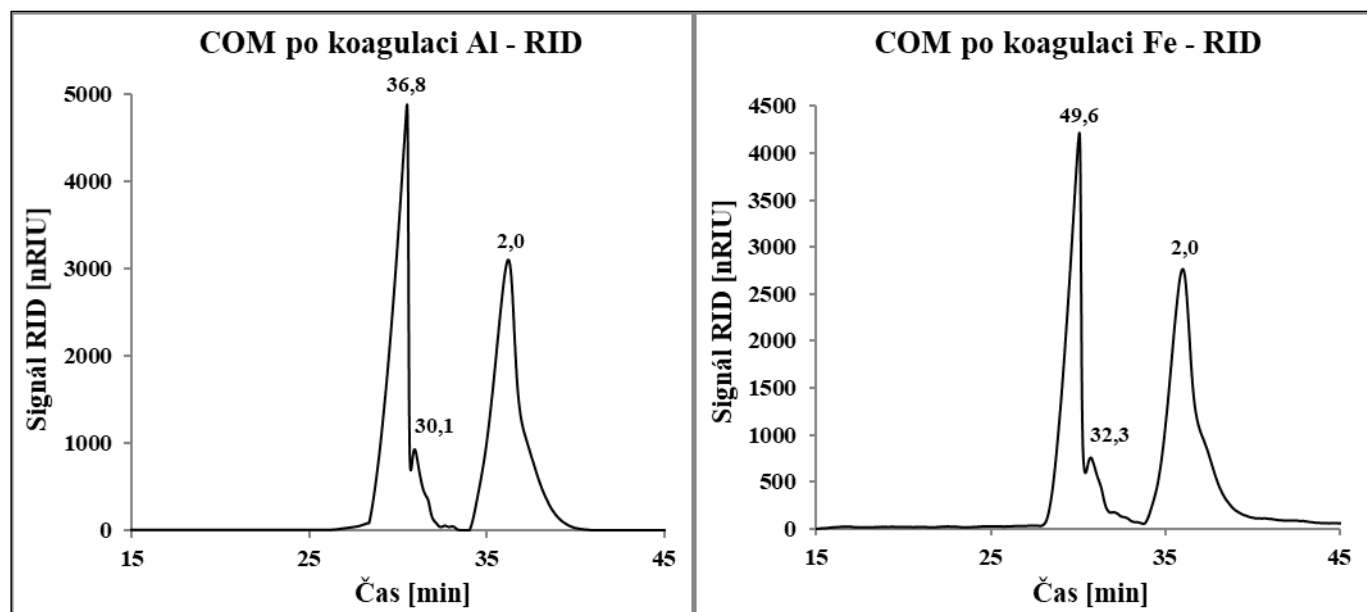
Výsledky distribuce molekulových hmotností (MW) z HPSEC – RID a HPSEC – DAD ukázaly, že koagulace s Al i Fe odstraňuje především vysokomolekulární látky. To vyplývá z porovnání distribuce MW pro surový vzorek COM (Obr. 5 a 6) a pro vzorky po koagulaci Al/Fe (Obr. 7 a 8). Po koagulaci surového vzorku COM zůstaly nekoagulované pouze látky s nižší MW. Ty jsou tedy koagulací obtížně odstranitelné. Ke stejným závěrům dospěli také například Henderson et al., 2010; Pivokonský et al., 2012; 2015; Barešová et al., 2017; Liu et al., 2019; Načeradská et al., 2019a. Na analýzách z HPSEC – RID je také vidět, že koagulace síranem železitým byla při odstraňování DOC účinnější. Síla signálu je vždy pro shodné MW nižší pro koagulace síranem železitým.



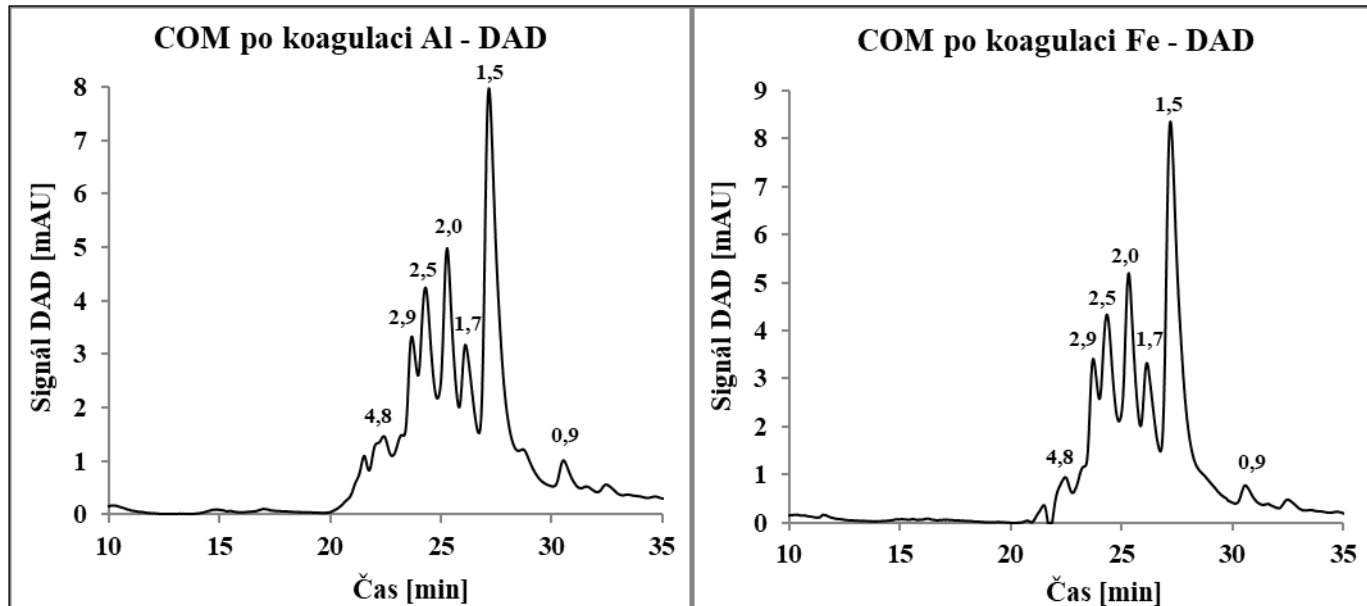
Obr. 5: Distribuce molekulových hmotností (MW) surového vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (DOC = 100 mg/L). Výsledky získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem indexu lomu (HPSEC – RID). Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.



Obr. 6: Distribuce molekulových hmotností (MW) surového vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (DOC = 100 mg/L). Výsledky získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem diodového pole při 280 nm (HPSEC – DAD). Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.



Obr. 7: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po koagulaci síranem hlinitým (vlevo) a síranem železitým (vpravo) při optimálních podmínkách koagulace. Výsledky získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem indexu lomu (HPSEC – RID). Vzorky po koagulaci byly před analýzou 20krát zahuštěny. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.

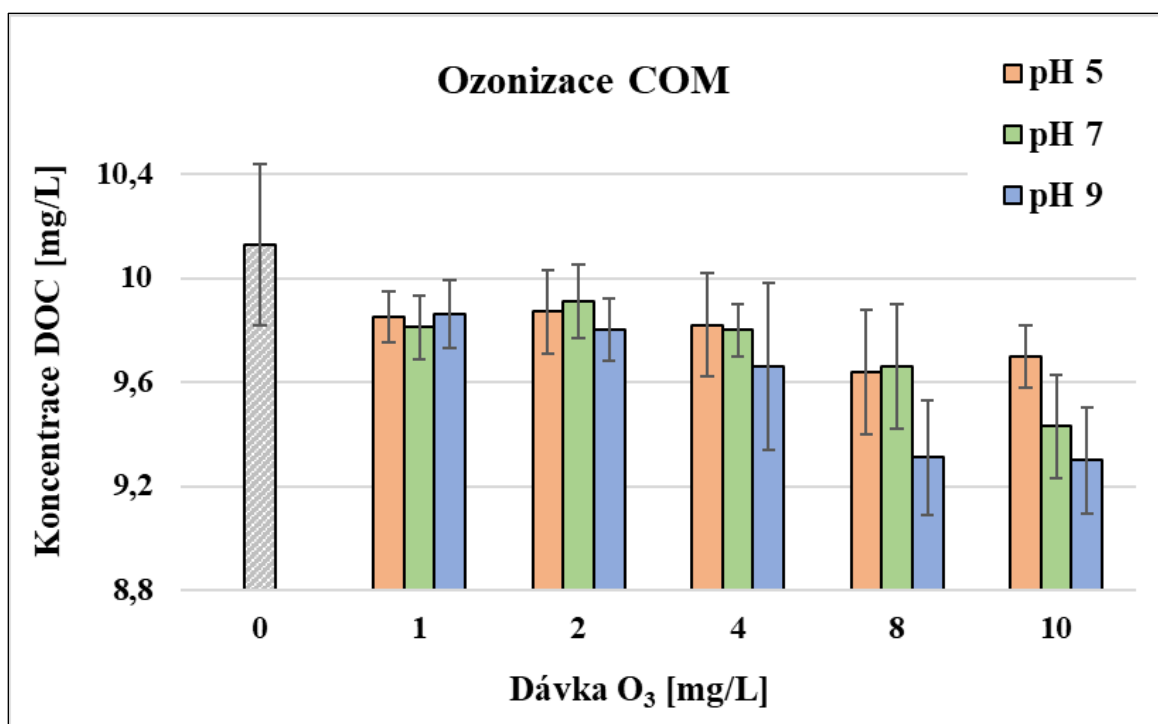


Obr. 8: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po koagulaci síranem hlinitým (vlevo) a síranem železitým (vpravo) při optimálních podmínkách koagulace. Výsledky získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem diodového pole při 280 nm (HPSEC – DAD). Vzorky po koagulaci byly před analýzou 20krát zahuštěny. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.

Porovnáním koncentrací DOC a zbytkových koncentrací Al/Fe ve vzorcích po sedimentaci a po odstředění bylo zjištěno, že odstředění je účinnější metodou separace vloček v laboratorních podmínkách. Toto tvrzení bylo otestováno pomocí párového t-testu. V případě sedimentace zůstávaly drobné vločky plavat na hladině a nesedimentovaly ani po více než 60 minutách. Vzhledem k vyšší účinnosti separace vloček odstředěním jsou všechny prezentované výsledky ze vzorků, které byly po koagulaci odstředěné.

5.2 Výsledky ozonizačních testů

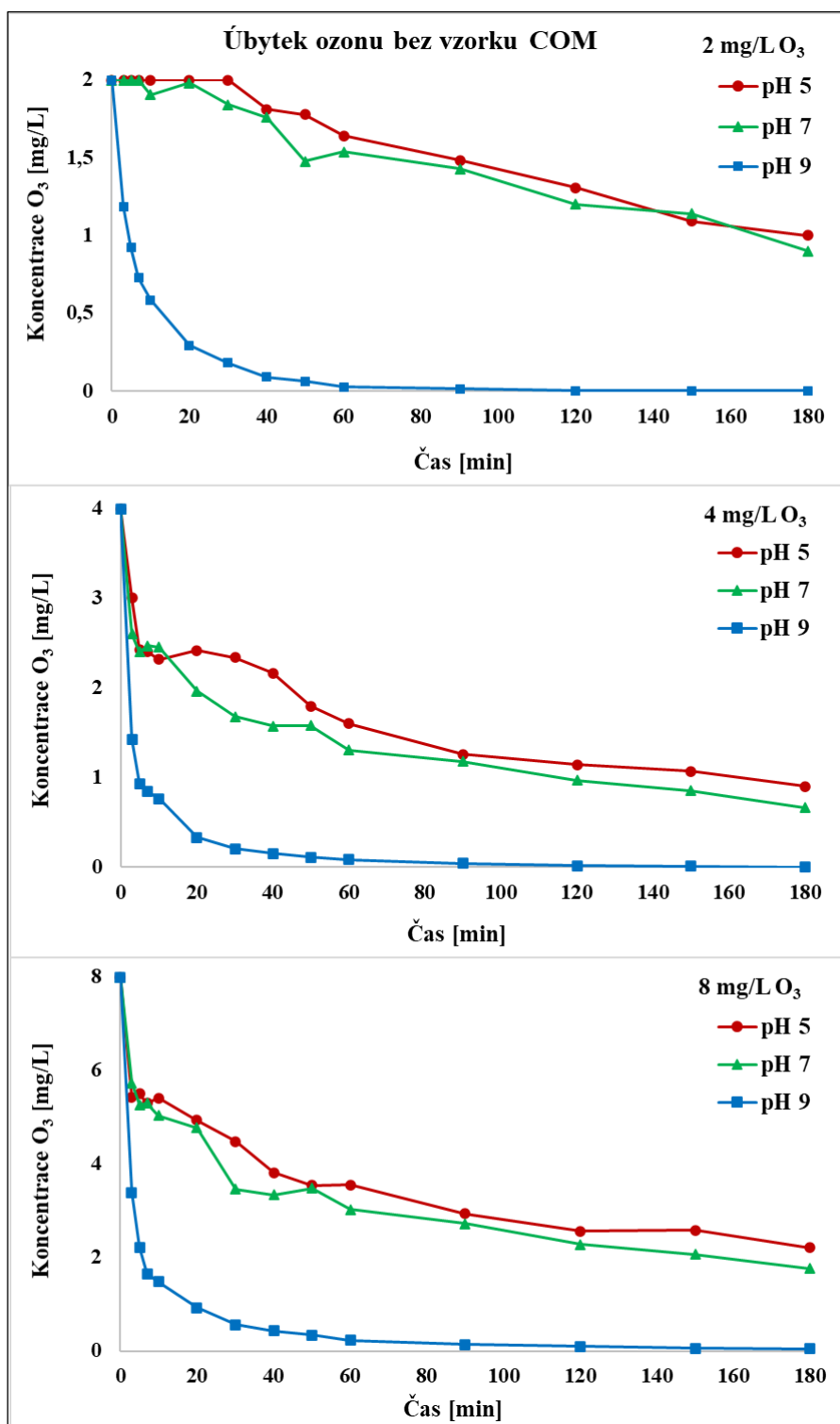
V případě použití samotného ozonu (pouze ozonizace bez kombinace s koagulací) na vzorky COM *M. aeruginosa* byl pozorován pouze malý účinek na odstranění těchto organických látek. Maximální snížení koncentrací DOC ve vzorku bylo o 7 % (počáteční koncentrace DOC 10 mg/L) s aplikovanou dávkou ozonu 10 mg/L při ozonizačním pH 9. Účinnější je ozon při vyšších hodnotách pH a je-li aplikován ve větších dávkách (Obr. 9). Výsledek podporuje tvrzení, že v kyselější oblasti pH je dominantním oxidačním činidlem molekulární ozon (O_3). Oproti tomu v alkalické oblasti pH je rozklad molekulárního ozonu urychlován hydroxidovými anionty (OH^-), což vede ke vzniku celé řady volných radikálů, mezi nimi také hydroxylových radikálů ($\cdot OH$), které jsou silnějším oxidačním činidlem než molekulární ozon, a navíc jsou neselektivní (Gunten, 2003). Proto byl odstraněn větší podíl organických látek při pH 9 než při pH 5 a 7. Widrig et al., 1996 zaznamenali také malý vliv samotné ozonizace na odstranění DOC. Koncentrace DOC tvořeného EOM *Microcystis aeruginosa*, *Scenedesmus quadricauda* a *Dictyosphaerium pulchellum* se v jejich případě snížily pouze o 0 – 3% po ozonizaci dávkou 0,8 mg O_3 /mg C při hodnotách pH 5 a 8. Paralkar & Edzwald, 1996 pozorovali taktéž pouze nepatrný vliv ozonu na koncentrace DOC představovaných EOM z *Cyclotella* sp., *Scenedesmus quadricauda* a *Chlorella vulgaris*. Vzorky EOM byly vystaveny dávkám ozonu 1 a 3 mg/L (počáteční koncentrace DOC 5,5; 2,5 a 3,6 mg/L).



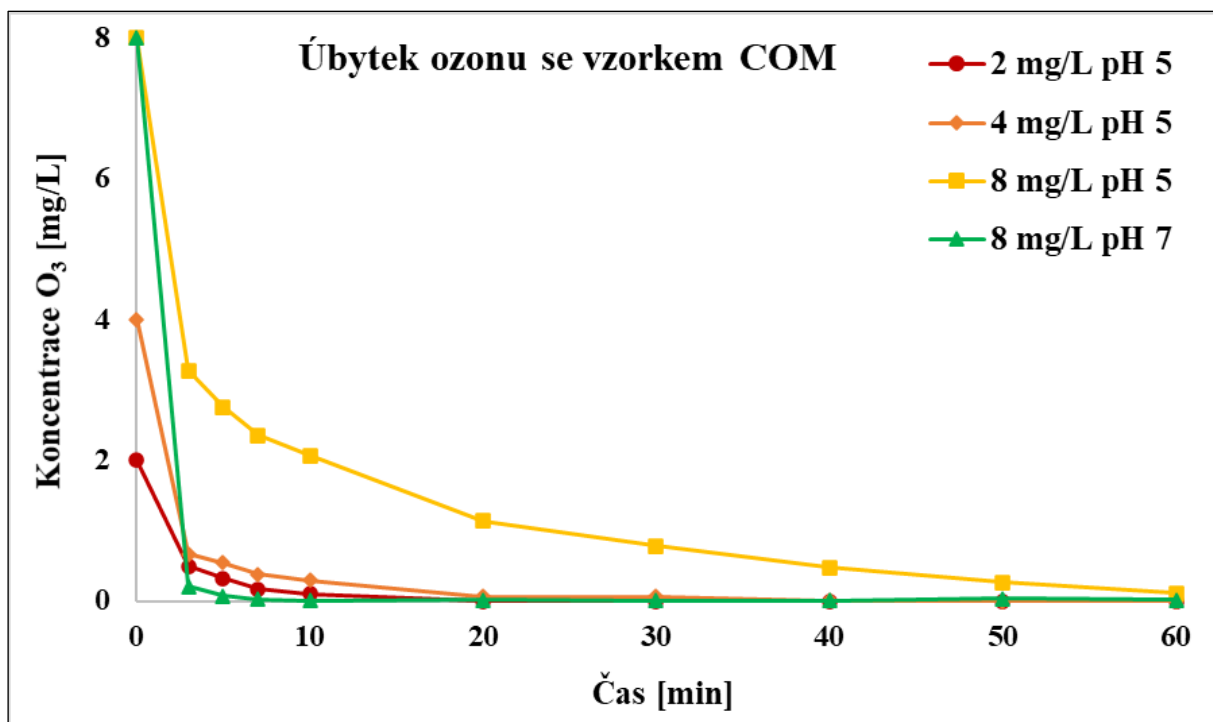
Obr. 9: Vliv ozonizace na koncentraci rozpuštěných organických látek (DOC) vzorku COM sinice *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L). Aplikované byly dávky ozonu 0 – 10 mg/L při třech různých hodnotách pH – 5, 7, 9. Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku z trojího měření.

I když byl při pozorování v této práci zaznamenán pouze mírný pokles koncentrací COM po ozonizaci, COM i tak spotřebovávají značné množství ozonu a zrychlují jeho rozklad. Toto vyplynulo z porovnání křivek rozpadu ozonu v nepřítomnosti a přítomnosti COM (Obr. 10 a 11). V nepřítomnosti organických látek bylo možné detekovat ozon ve vzorku i po 180 minutách od jeho nadávkování při pH ozonizace 5 a 7. Čím vyšší byla dávka ozonu (aplikované dávky 2, 4, 8 mg/L O₃), tím vyšší byly jeho zbytkové koncentrace po 180 minutách od nadávkování. Při pH 9 byl pozorován větší a rychlejší úbytek koncentrace O₃ než při pH 5 a 7, kdy byl pokles koncentrace mnohem pozvolnější. V přítomnosti organických látek byl pozorován strmější a rychlejší úbytek koncentrací ozonu než v jejich nepřítomnosti. Pro dávky ozonu 2 a 4 mg/L O₃ bylo možné sledovat průběh koncentrací pouze při pH 5. Při pH 7 a 9 nebyly ve vzorcích změřené žádné koncentrace ozonu již po 3 minutách od jeho nadávkování. V případě nejvyšší dávky, 8 mg/L O₃, byly nejdéle měřitelné koncentrace ozonu při pH 5, nulové byly po 60 minutách od nadávkování. Ve vzorku s pH 7 nebyl ozon zaznamenán po 10 minutách a ve vzorku s pH 9 již po 3 minutách. I v těchto pokusech se projevil vliv pH na chování ozonu a prokázala se teorie, že se zvyšující se hodnotou pH se zvyšuje i rychlost rozkladu ozonu (Forni et al., 1982; Staehelln & Hoigne, 1985; Gunten, 2003). Při pH 9 se ozon

rozkládal rychleji než při pH 5 a 7. Podobně jako v této práci byl pozorován ve studiích zabývajících se ozonizací suspenze buněk sinic výrazně rychlejší rozklad ozonu v přítomnosti buněk oproti vzorkům bez buněk. Rychlost rozkladu ozonu se navíc zvyšovala s rostoucí koncentrací buněk (Coral et al., 2013; Wen et al., 2017).

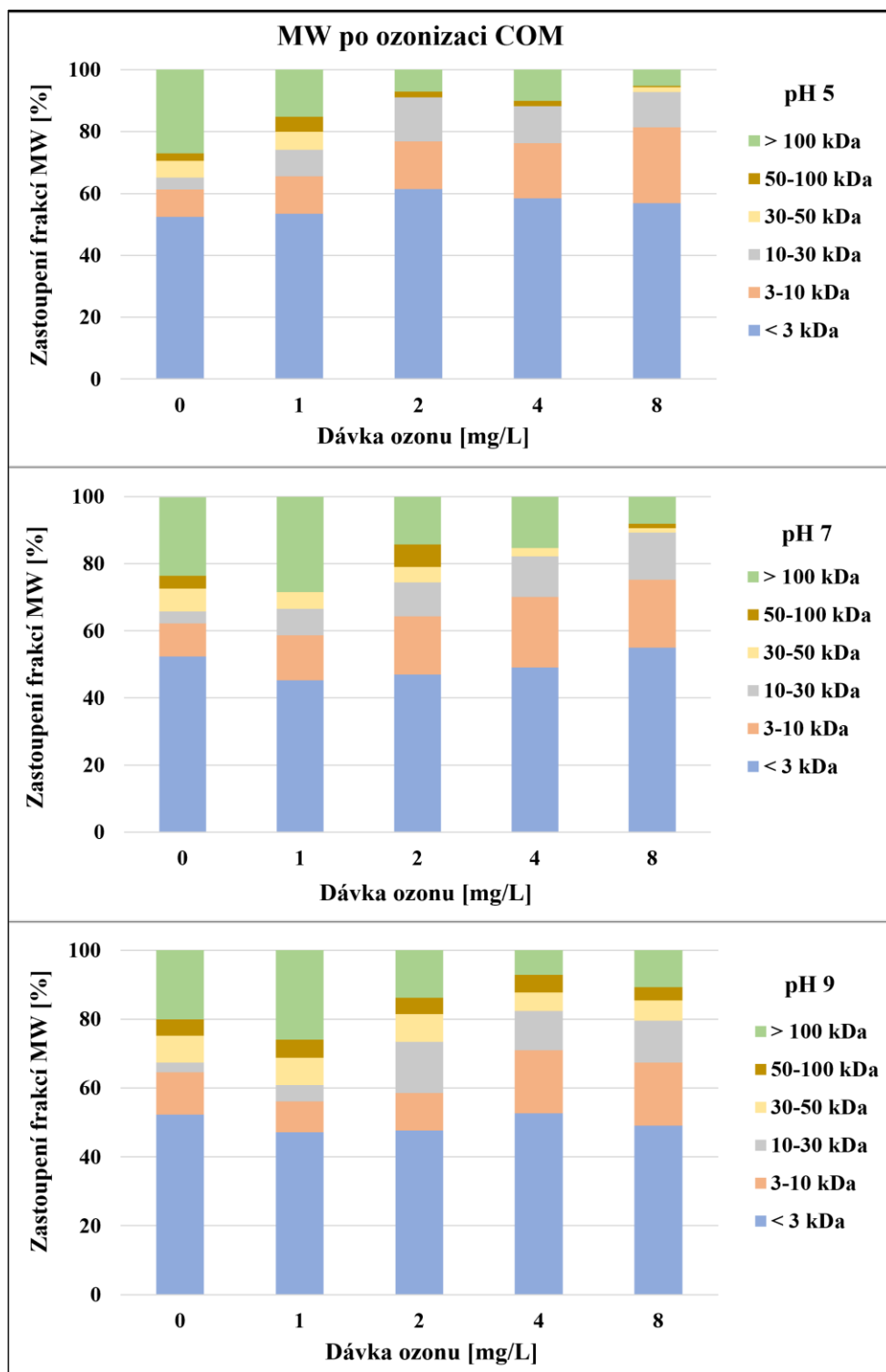


Obr. 10: Křivky úbytku ozonu v čase ve vzorku bez COM. Aplikované byly dávky ozonu 2, 4 a 8 mg/L při třech různých hodnotách pH – 5, 7, 9. Zbytkové koncentrace ozonu byly měřeny vždy po 3, 5, 7 a 10 minutách a následně v 10-ti minutových a později v 30-ti minutových intervalech.



Obr. 11: Křivky úbytku ozonu v čase ve vzorku s COM. Aplikované byly dávky ozonu 2, 4 a 8 mg/L při třech různých hodnotách pH – 5, 7, 9. Zbytkové koncentrace ozonu byly měřeny vždy po 3, 5, 7 a 10 minutách a následně v 10-ti minutových a později v 20-ti minutových intervalech, dokud byl ještě ozon ve vzorcích detekován.

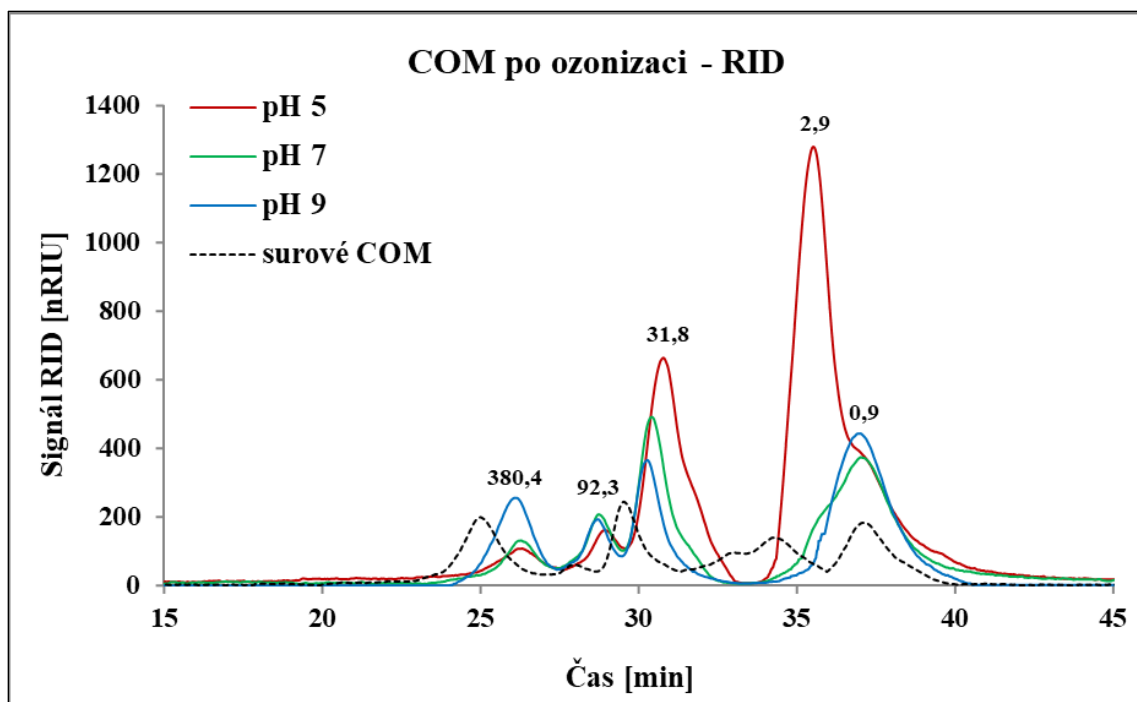
Výsledky frakcionace, která byla prováděna za pomoci Millipore filtrů, ukázaly, že ozon mění zastoupení jednotlivých velikostních frakcí ve vzorku COM *M. aeruginosa*. To dokazuje porovnání procentuálního zastoupení frakcí ve vzorcích bez ozonizace a po ozonizaci (Obr. 12). S rostoucí dávkou ozonu se podíly frakce s vysokou molekulovou hmotností (MW) snižovaly, a naopak rostly podíly frakcí s nízkou MW.



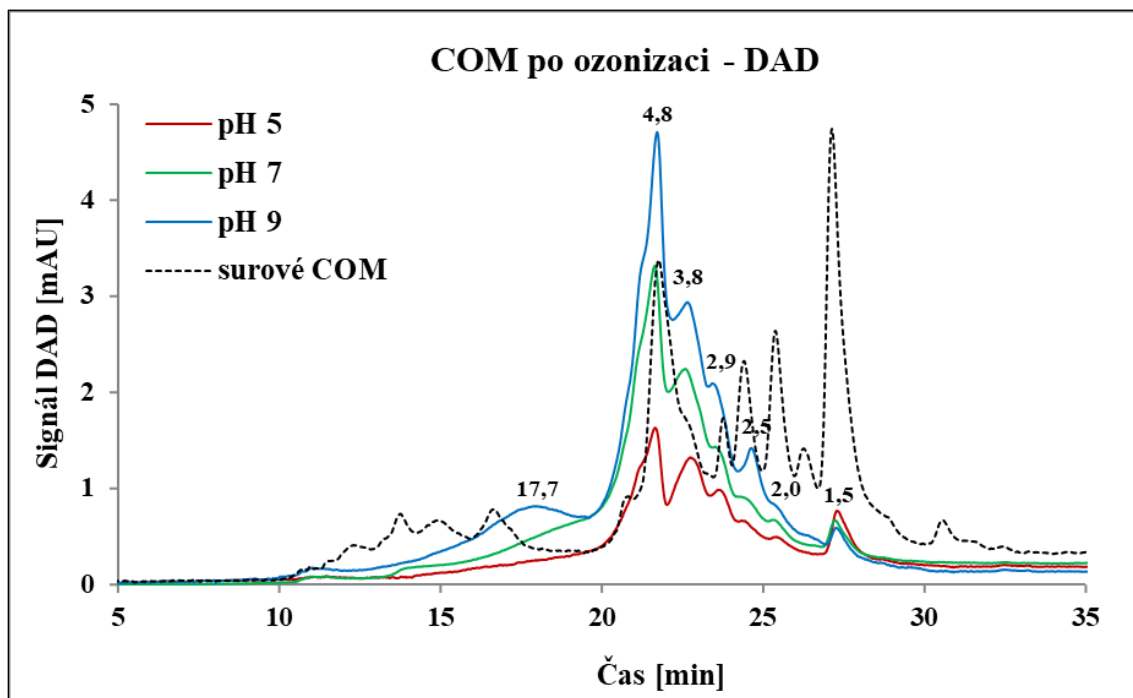
Obr. 12: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po ozonizaci dávkami 0 – 8 mg/L O₃ při třech hodnotách pH – 5, 7 a 9. Vzorky po ozonizaci byly před frakcionací 10krát zahuštěny.

Také analýzy HPSEC – RID samotného vzorku COM a vzorků po ozonizaci dávkou 8 mg/L O₃ (0,8 mg O₃/mg DOC) při pH 5, 7 a 9 potvrdily pokles frakcí s vysokou MW a nárůst frakcí s nízkou MW ve vzorcích po ozonizaci (Obr. 13). Tento účinek ozonu na COM byl

nejvýraznější při ozonizačním pH 5. Výsledky HPSEC – DAD ukázaly významné snížení látek s vysokou MW po ozonizaci vzorku COM (Obr. 14). Jak znázorňuje obr. 14 nejvyšší molekuly ve vzorku po ozonizaci dosahovaly pouze necelých 18 kDa. DAD detekoval absorpenci vzorku při vlnové délce 280 nm, při které absorbují především aromatické struktury v proteinech a peptidech. Ozon obecně rychle reaguje s dvojnými vazbami v organických sloučeninách a s aktivovanými aromatickými sloučeninami (Gunten, 2003), což pravděpodobně přispělo k významnému snížení detekovaného podílu sloučenin s vysokou MW. Na signálu z HPSEC – DAD (Obr. 14) je na rozdíl od HPSEC – RID vidět, že se zvyšujícím se pH ozonizace, se zvyšovala také síla signálu. To se dá vysvětlit tím, že účinnější je reakce ozonu s dvojnými vazbami a aktivovanými aromatickými sloučeninami v kyslejší oblasti pH, tedy v této diplomové práci při pH 5. Opět jsme v souladu s teorií, že v kyslejší oblasti pH je dominantním oxidačním činidlem molekulární ozon (O_3), který je selektivní (Gunten, 2003), a tak si vybírá právě výše zmíněné sloučeniny. Změnu molekulových hmotností po ozonizaci EOM a COM sinice *M. aeruginosa* zaznamenali také Wen et al., 2017. Dávka ozonu 2 mg/L při ozonizačním pH 7 vedla ke snížení podílu látek s vysokou MW a ke zvýšení látek s nízkou MW (počáteční DOC = 2 mg/L). Paralkar & Edzwald, 1996 rozdělili extracelulární organické látky (EOM) z *Cyclotella* sp., *Scenedesmus quadricauda* a *Chlorella vulgaris* do tří skupin dle velikostí molekul – látky s nízkou MW <3 kDa, se střední MW 3 – 30 kDa a s vysokou MW >30 kDa. Ozonizace způsobila pokles podílů frakcí s vysokou MW a nárůst podílů frakcí se střední a nízkou MW. Použité dávky ozonu byly 1 mg/L (0,4; 0,6; 0,8 mg O_3 /mg DOC) a 3 mg/L (1,2; 1,8; 2,6 mg O_3 /mg DOC). Vyšší dávka ozonu, tedy 3 mg/L, produkovala vyšší podíl frakcí s nižší MW než dávka 1 mg/L. Stejný trend, tedy klesající podíl vysokomolekulárních látek a narůstající podíl nízkomolekulárních látek, pozorovali také Xie et al., 2013 pro látky adsorbované na povrchu buněk a COM uvolňované z buněk *M. aeruginosa* při ozonizaci, Zhou et al., 2015 pro EOM a COM *M. aeruginosa* a Wei et al., 2016 pro EOM *M. aeruginosa*. Xie et al., 2013 a Wei et al., 2016 zaznamenali, že čím vyšší dávku ozonu použili, tak tím větší byl úbytek látek s vyšší MW. Např. Wei et al., 2016 zjistili, že po aplikaci dávek ozonu 2, 5, 10 a 15 mg/L se snížilo množství biopolymerů s MW >20 kDa o 4 %, 8 %, 58 % a 71 % (počáteční DOC = $10,5 \pm 0,5$ mg/L). Po ozonizaci se také snížilo množství sloučenin o velikosti 350 – 500 Da a <350 Da. Naopak vzrostlo množství látek s MW 1 – 10 kDa v důsledku rozpadu biopolymerů (>20 kDa).



Obr. 13: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po ozonizaci dávkou 8 mg/L O₃ při pH 5, 7 a 9. Výsledky získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem indexu lomu (HPSEC – RID). Pro porovnání je v grafu také křivka znázorňující distribuci MW surového vzorku COM. Vzorky po ozonizaci byly před analýzou 10krát zahuštěny. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.



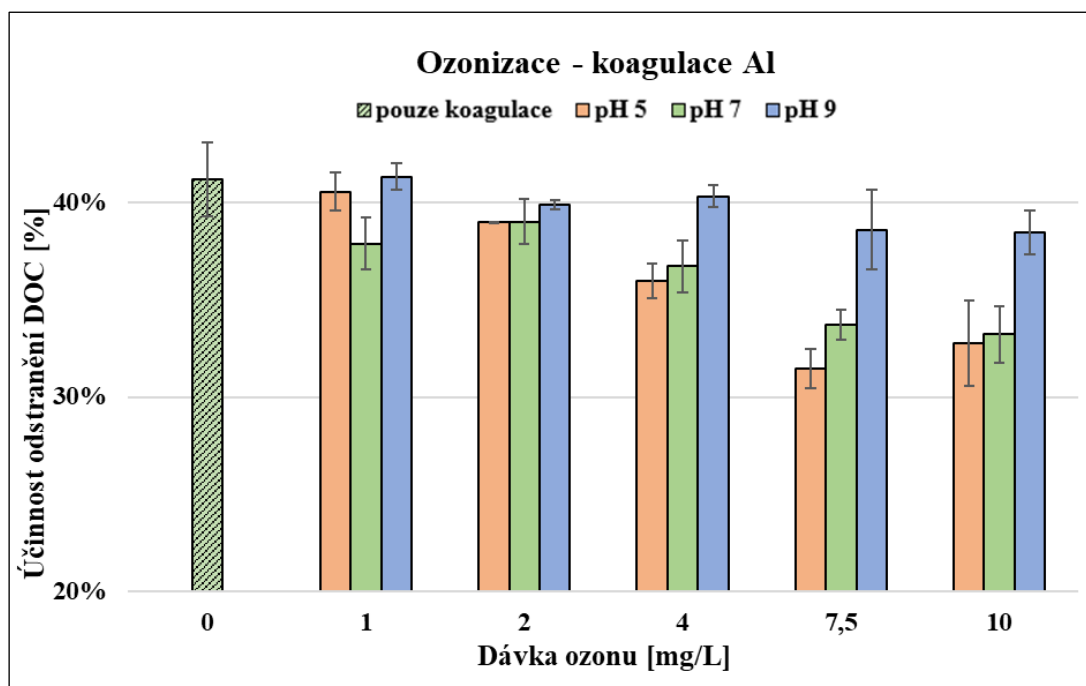
Obr. 14: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po ozonizaci dávkou 8 mg/L O₃ při pH 5, 7 a 9. Výsledky získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem diodového pole při 280 nm (HPSEC – DAD). Pro porovnání je v grafu také křivka znázorňující distribuci MW surového vzorku COM. Vzorky po ozonizaci byly před analýzou 10krát zahuštěny. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.

5.3 Výsledky předozonizace

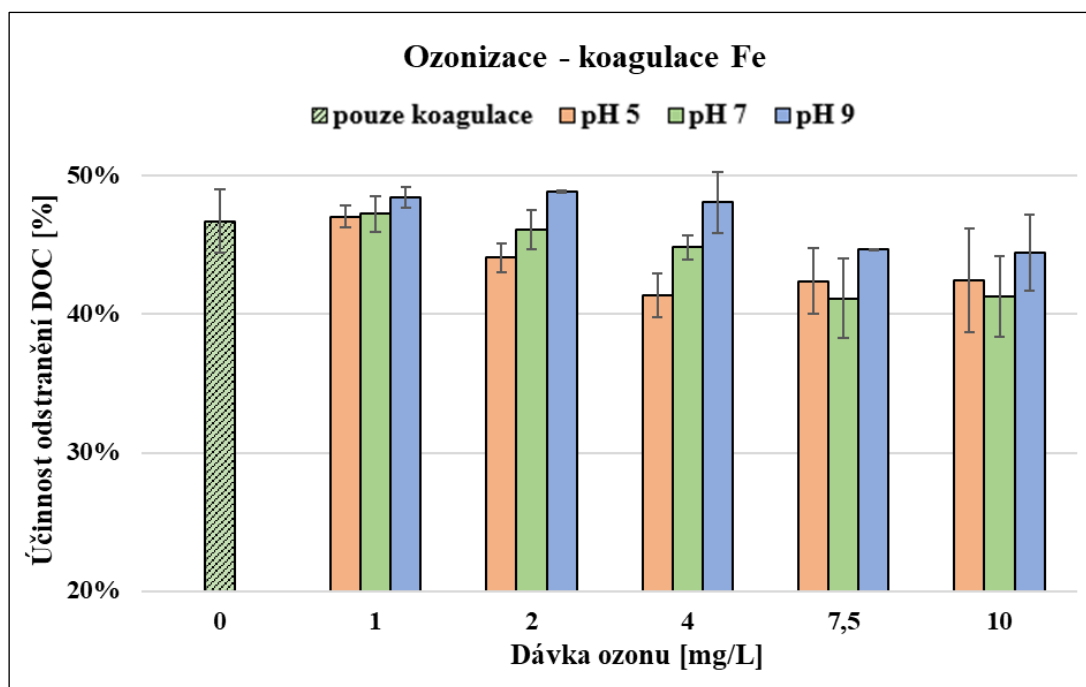
V případě předozonizace byl ke vzorkům COM sinice *M. aeruginosa* nejprve dávkován ozon a následně byla provedena koagulace za optimalizovaných podmínek, tedy pH v rozmezí 6 – 7 a dávky koagulačních činidel síranu hlinitého a síranu železitého 6,5 a 13,6 mg/L (0,024 mmol na mg DOC, viz kapitola 5.1). Ke vzorkům COM o počáteční koncentraci DOC 10 mg/L byly přidány dávky ozonu 1, 2, 4, 7,5 a 10 mg/L (0,1; 0,2; 0,4; 0,75 a 1 mg O₃/mg DOC) při hodnotách pH 5, 7 a 9. Výsledky ukázaly, že předozonizace vedla ke snížení účinnosti koagulace (Obr. 15 a 16). Se zvyšující se dávkou ozonu byl tento účinek výraznější. Navíc bylo snížení účinnosti koagulace výraznější při ozonizačním pH 5 a 7, než při pH 9, zejména pak v případě použití síranu hlinitého jako koagulačního činidla (Obr. 15). S nejvyšší dávkou ozonu 10 mg/L bylo dosaženo snížení účinnosti koagulace o přibližně 8 % při ozonizačním pH 5 a 7 a o 3 % při pH 9, když byl použit síran hlinitý jako koagulant (Obr. 15). V případě koagulace se síranem železitým byla účinnost snížena o 4 %, 5 % a 2 % při pH 5, 7 a 9 (Obr. 16). Ve všech případech byly zbytkové koncentrace Al i Fe nižší, než je hodnota limitu pro pitnou vodu, tedy než 0,2 mg/L (Vyhláška č. 252/2004 Sb). Odlišné změny ve snížení účinnosti koagulace při různých hodnotách pH ozonizace opět souvisejí s dvěma cestami, kterými může probíhat oxidace ozonem (jak již bylo popsáno výše – kapitola 5.2 Výsledky ozonizačních testů). Rozdíl byl ale také zaznamenán v případě koagulace prováděné s hlinitým nebo železitým koagulačním činidlem. Vyšších účinností po předozonizaci dosahovala koagulace síranem železitým. To je možné pozorovat na výsledcích účinnosti odstranění DOC po ozonizaci – koagulaci Al a Fe (Obr. 15 a 16). Rozdíl je možné zdůvodnit tím, že Fe účinněji odstraňuje organické látky s nižší molekulovou hmotností (Matilainen et al., 2010), jejichž podíl se po předozonizaci COM zvyšuje (viz kapitola 5.2 Výsledky ozonizačních testů). Tuto teorii potvrzují výsledky analýz HPSEC – DAD pro vzorky po ozonizaci – koagulaci s Al a Fe (Obr. 17 a 18), kde síla signálu je nižší pro vzorky s Fe než s Al, což odpovídá odstranění většího podílu látek o daných molekulových hmotnostech železitým koagulantem oproti hlinitému koagulantu.

Degradace vysokomolekulárních látek na látky s nižší molekulovou hmotností je pravděpodobně příčinou nižší účinnosti koagulace s předozonizací než bez ní. Látky s nízkou molekulovou hmotností jsou totiž hůře koagulovatelné, což zjistili např. Pivokonský et al., 2012; 2015; Gonzalez-Torres et al., 2014; Liu et al., 2019; Načeradská et al., 2019a, a potvrdily to také zde prezentované výsledky analýz HPSEC – RID. Z těch vyplynulo, že po koagulaci

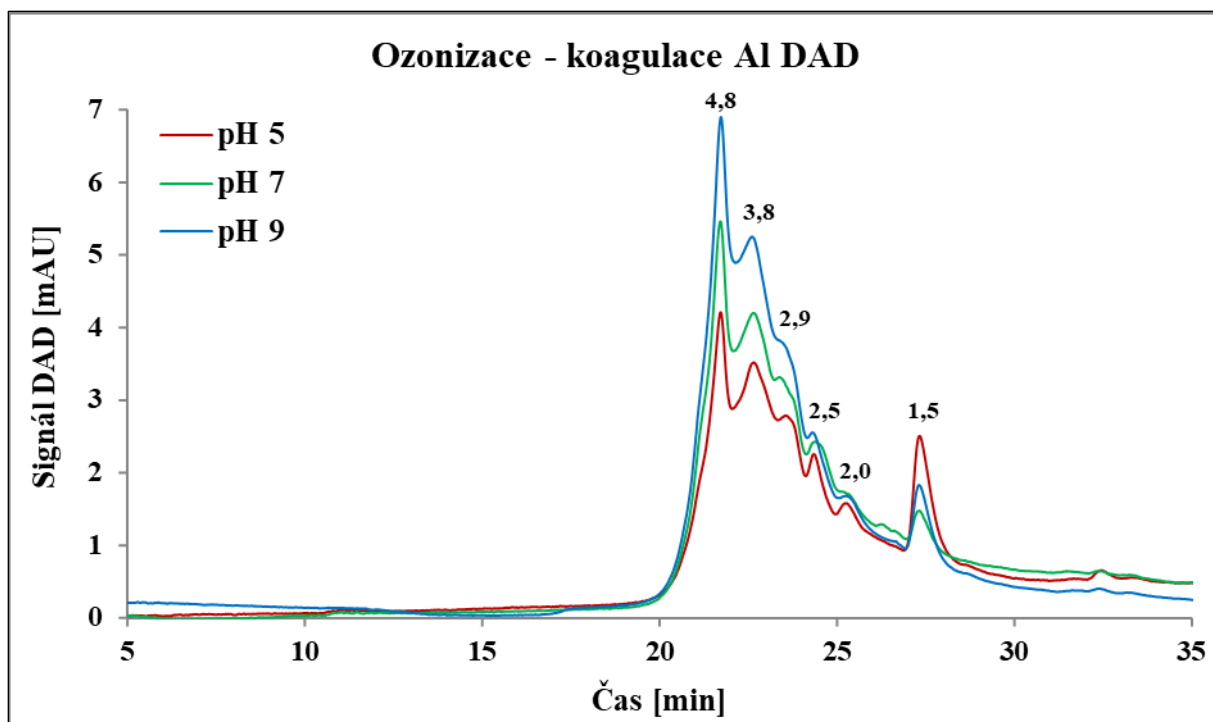
vzorku COM zcela vymizely vysokomolekulární látky a zůstaly pouze látky s nízkou MW, což svědčí o tom, že vysokomolekulární látky byly koagulací odstraněny (Obr. 7).



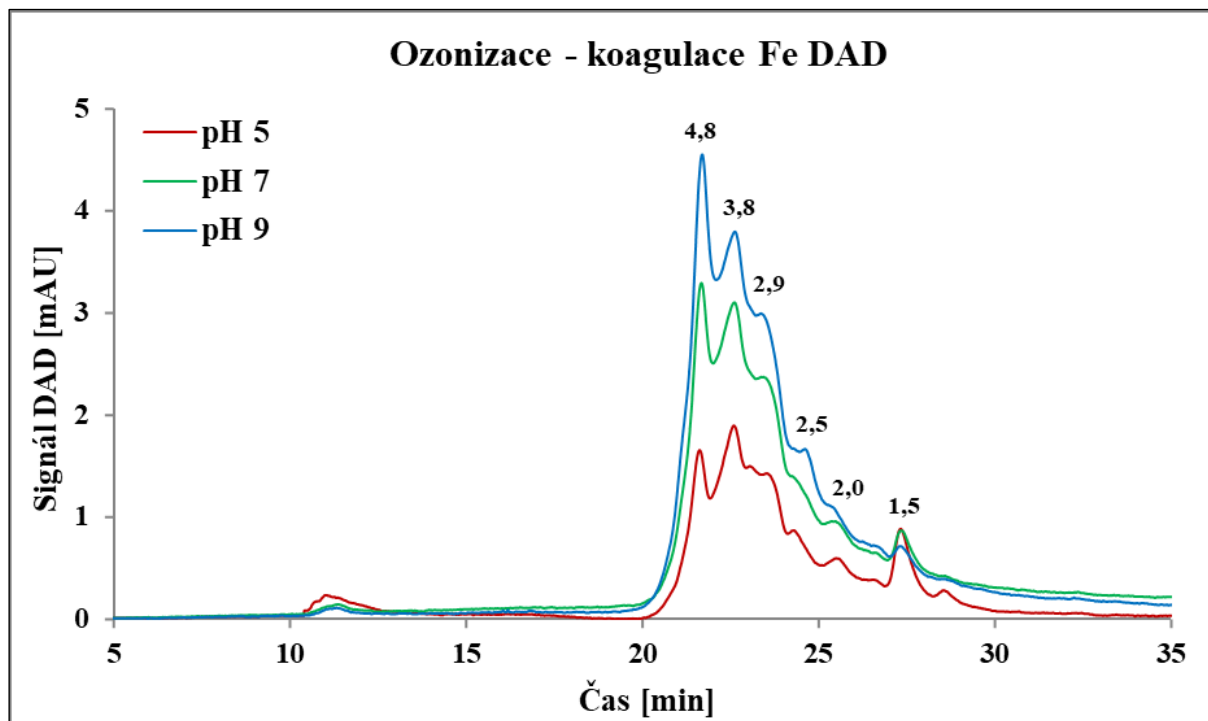
Obr. 15: Účinnost odstranění DOC vzorku COM *M. aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci síranem hliníovým bez předozonizace (dávka ozonu 0 mg/L) a s předozonizací dávkami 1 – 10 mg/L O₃. Dávka hliníku byla 6,5 mg/L. Předozonizace proběhla při třech hodnotách pH – 5, 7, 9. Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku z trojího měření.



Obr. 16: Účinnost odstranění DOC vzorku COM *M. aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci síranem železitým bez předozonizace (dávka ozonu 0 mg/L) a s předozonizací dávkami 1 – 10 mg/L O₃. Dávka železa byla 13,6 mg/L. Předozonizace proběhla při třech hodnotách pH – 5, 7, 9. Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku z trojího měření.

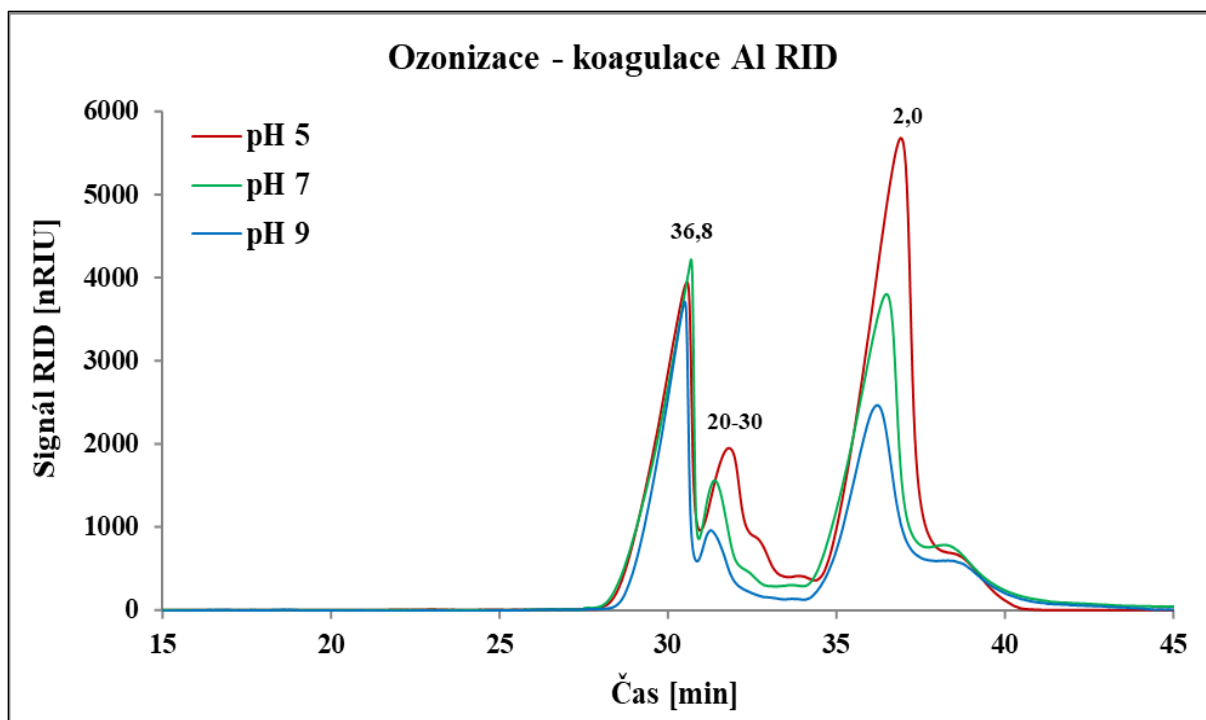


Obr. 17: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s předozonizací při pH 5, 7 a 9. Jako koagulační činidlo byl použit síran hlinitý. Dávka ozonu byla 10 mg/L. Výsledky byly získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem diodového pole při 280 nm (HPSEC – DAD). Vzorky byly před analýzou 20krát zahuštěné. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.

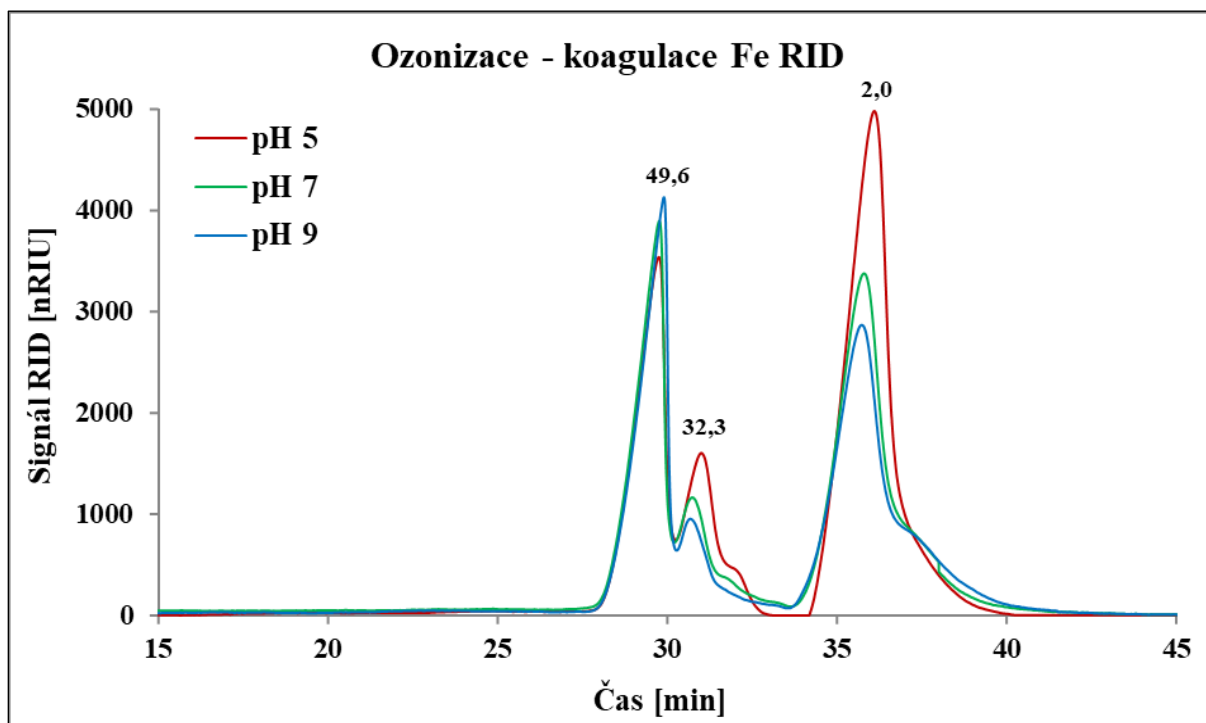


Obr. 18: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s předozonizací. Jako koagulační činidlo byl použit síran železitý. Dávka ozonu byla 10 mg/L. Výsledky byly získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem diodového pole při 280 nm (HPSEC – DAD). Vzorky byly před analýzou 20krát zahuštěné. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.

Výsledky HPSEC – RID pro vzorky po koagulaci s předozonizací (Obr. 19 a 20) jsou podobné s těmi po samotné koagulaci (Obr. 7 a 8). Distribuce molekulových hmotností zůstala přibližně stejná jak pro vzorky po koagulaci s Al, tak pro ty po koagulaci s Fe. Změnilo se ale jejich množství. Po ozonizaci – koagulaci došlo ke snížení síly signálu u větších molekul (~ 37 – 50 kDa) a naopak ke zvýšení u molekul o menší velikosti (2 kDa). Ozon tedy pravděpodobně rozbil větší molekuly a způsobil tak nárůst molekul o nižších MW. Výsledky HPSEC – DAD opět ukázaly vliv pH ozonizace. Podobně jako v případě samotné ozonizace je síla signálu vyšší, čím vyšší je hodnota pH (Obr. 17 a 18). Samotná ozonizace při pH 9 vedla k větší mineralizaci DOC než při pH 5 a 7 (Obr. 9). Tato mineralizace tak pravděpodobně přispívá k vyššímu odstranění DOC po koagulaci s předozonizací při pH 9 než při pH 5 a 7. Tím tedy dochází k tomu, že snížení účinnosti koagulace předchozí oxidací ozonem je nejméně výrazné při pH 9. Výsledky HPSEC – DAD také ukazují, že síla signálu je nižší pro vzorky po ozonizaci – koagulaci (Obr. 17 a 18) než po samotné koagulaci (Obr. 8). To by mohlo být způsobeno selektivitou ozonu. Ozon ochotně reaguje s dvojnými vazbami a aromatickými sloučeninami (Gunten, 2003), nejúčinněji v kyselejší oblasti pH (jak již bylo diskutováno v kapitole 5.2 Výsledky ozonizačních testů). Jejich oxidace ozonem je tak pravděpodobně odpovědná za nižší hodnoty signálu DAD vzorků po ozonizaci než těch bez použití ozonu. Odpovídá to zjištění Widriga et al., 1996, kteří sledovali přeměnu aromatického dusíku na alifatický po ozonizaci EOM *Microcystis aeruginosa*, *Scenedesmus quadricauda* a *Dictyosphaerium pulchellum*.



Obr. 19: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s předozonizací při pH 5, 7 a 9. Jako koagulační činidlo byl použit síran hlinitý. Dávka ozonu byla 10 mg/L. Výsledky byly získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem indexu lomu (HPSEC – RID). Vzorky byly před analýzou 20krát zahuštěné. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.



Obr. 20: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s předozonizací při pH 5, 7 a 9. Jako koagulační činidlo byl použit síran železitý. Dávka ozonu byla 10 mg/L. Výsledky byly získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem indexu lomu (HPSEC – RID). Vzorky byly před analýzou 20krát zahuštěné. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.

Snížení účinnosti koagulace po předozonizaci by mohlo být také způsobeno chemickými změnami charakteru COM. Např. Paralkar & Edzwald, 1996 pozorovali změnu náboje po ozonizaci EOM z *Cyclotella* sp., *Scenedesmus quadricauda* a *Chlorella vulgaris*. Konkrétně se zvýšil podíl karboxylových a fenolických funkčních skupin. Jelikož náboj hraje při koagulaci významnou roli, může změna v zastoupení náboje ovlivnit mechanismus, kterým koagulace probíhá (Edzwald, 1993; Duan & Gregory, 2003). Cheng et al., 2016 zjistili, že předozonizace změnila vlastnosti přírodní organické hmoty (NOM). Úprava ozonem vedla k přeměně hydrofobních molekul s vysokou MW na menší a hydrofilní molekuly. Čím vyšší dávka ozonu byla použita, tím více molekul bylo přeměněno. Hydrofilní látky jsou ve srovnání s hydrofobními hůře odstranitelné koagulací (Chiang et al., 2009; Barešová et al., 2017). Účinnost všech procesů a změny, ke kterým dochází, jsou závislé na chemické povaze organických látek (Widrig et al., 1996).

Studii, které by se zabývaly vlivem ozonizace na AOM a jejich následnou koagulací je velmi málo (Paralkar & Edzwald, 1996; Widrig et al., 1996; Ma et al., 2006). Navíc většina z nich se zabývá pouze EOM, které se uvolňují během růstu řas a sinic. Další studie se pak věnují vlivu předozonizace na koagulaci celý buněk řas a sinic (Plummer and Edzwald, 2002; Liu et al., 2017). V rozporu s výsledky této diplomové práce je pozorování Ma et al., 2006. Ti totiž dosáhli předoxidací EOM z řasy *Oscillatoria amoena* zlepšení účinnosti koagulace. Účinnost se zvýšila o 6,6 % a 1,2 % s dávkami ozonu 1 mg/L a 2 mg/L, tedy vyšší účinnosti bylo dosaženo s nižší dávkou ozonu. Autoři tento rozdíl vysvětlují tím, že předozonizace může měnit stabilitu částic, což podporuje jejich koagulaci. Na druhé straně, ale také může vést k rozkladu vysokomolekulárních látek na látky s nízkou MW, což je pro koagulaci nevýhodné. K rozkladu vysokomolekulárních látek pravděpodobně došlo při použití vyšší dávky ozonu (2 mg/L). Nicméně samotná koagulace odstranila jen omezené množství DOC (29,1 %), což autoři přisoudili charakteru EOM (větší podíl tvořili frakce s nízkou MW). Jejich výsledky se shodují s Widrig et al., 1996, kteří zkoumali předozonizaci a následnou koagulaci EOM produkované *Microcystis aeruginosa*, *Scenedesmus quadricauda* a *Dictyosphaerium pulchellum*. Předozonizace zvýšila účinnost koagulace o 5 – 15 % v závislosti na druhu, když byla aplikovaná dávka ozonu 0,8 mg O₃/mg DOC při pH 8. Nicméně, zvýšení účinnosti autoři dosáhli při nestandardně vysoké dávce koagulačního činidla 2,96 mmol FeCl₃, což odpovídá 165,3 mg/L Fe. Navíc není ve studii zmíněné, zda prováděli optimalizaci podmínek koagulace, pouze uvádějí, že koagulovali při pH 5 a 8. Zároveň není uvedeno, zda měřili zbytkové koncentrace Fe. Když použili nižší dávku koagulantu 0,3 mmol Fe, respektive 16,75 mg/L Fe, což odpovídá reálně používaným dávkám při úpravě vody, zvýšila se účinnost koagulace pouze

o 1 – 2 % a v případě *M. aeruginosa* se účinnost dokonce o 1 % snížila. Shodné jsou výsledky této diplomové práce s Widrig et al., 1996 v ozonizačním pH – dosáhli vždy mírně lepšího odstranění DOC, když byla předozonizace prováděna při vyšším pH, tedy v jejich případě při pH 8 než při pH 5.

Někteří autoři, např. Bose & Reckhow, 2007 pozorovali snížení účinnosti koagulace při předozonizaci NOM odebraných z eutrofního přírodního povrchového zdroje. Se zvyšující se dávkou ozonu klesala účinnost odstranění organických látek koagulací s použitím hlinitého koagulačního činidla, což je v souladu s výsledky této diplomové práce.

5.4 Výsledky postozonizace

V případě postozonizace byl ke vzorkům COM sinice *M. aeruginosa* ozon dávkován až po optimalizované koagulaci. Nejprve byly vzorky COM zkoagulovány, následně byl celý objem vzorku odstředěn (3000 rpm, 20 minut), bylo upraveno pH na hodnoty 5, 7 a 9 a teprve poté byl dávkován ozon (viz kapitola 4.5 Postozonizace). Jeden vzorek vždy zůstal bez úpravy pH a hodnoty pH tak zůstaly po optimalizované koagulaci, tedy v rozmezí 6 – 7. Ke vzorkům COM o počáteční koncentraci 10 mg/L byly po koagulaci aplikované dávky ozonu 2,5; 5; 7,5; 10 a 14 mg/L (0,25; 0,5; 0,75; 1 a 1,4 mg O₃/mg DOC). Výsledky ukázaly, že na rozdíl od předozonizace, zařazení ozonizace až po koagulaci zvyšuje účinnost odstranění DOC (Obr. 21 a 22). Se zvyšující se dávkou ozonu byl tento účinek výraznější. S nejvyšší dávkou ozonu 14 mg/L a se síranem hlinitým jako koagulačním činidlem, se účinnost odstranění DOC zvýšila o přibližně 6 % při ozonizačním pH 5, o 8 % při pH 7, o 7 % při pH 9 a o 8 % při pH koagulace (tedy bez úpravy pH před ozonizací). V případě síranu železitého jako koagulačního činidla se účinnost pro stejnou dávku ozonu zvýšila o přibližně 4 %, 7 %, 5 % a 7 % při ozonizačním pH 5, 7, 9 a při pH koagulace. Celkově vyšší účinnosti dosahovala koagulace – postozonizace, když byl vzorek COM koagulován síranem železitým.

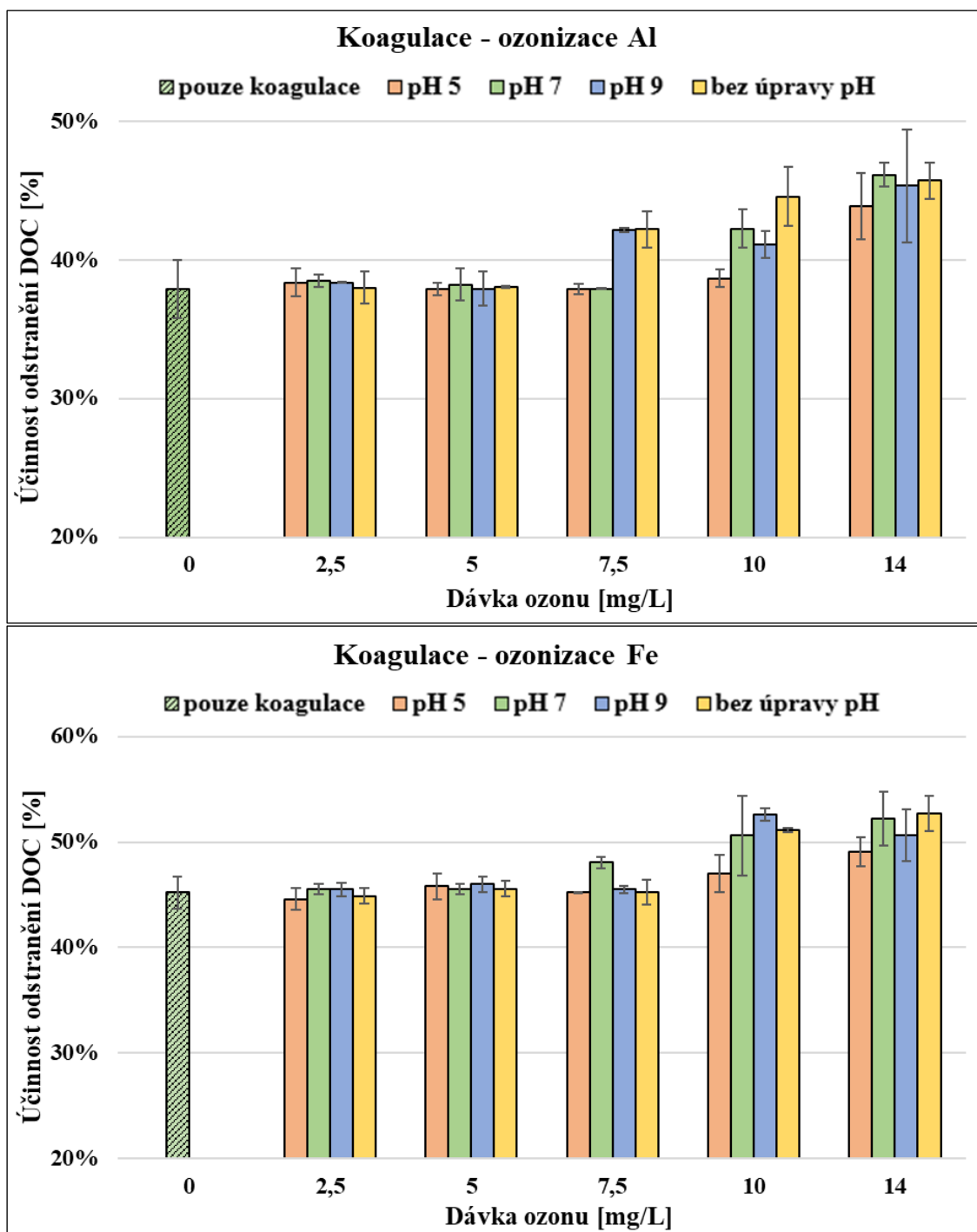
Celková účinnost samotné koagulace byla při postozonizačních experimentech nižší s použitím síranu hlinitého jako koagulantu oproti železitému koagulantu. Tento závěr je shodný jako v případě samostatně prováděných koagulačních testů – kapitola 5.1 Výsledky koagulačních testů. Průměrná účinnost odstranění DOC koagulací v koagulačně-ozonizačních experimentech Al koagulantem byla 38 % (Obr. 21) a Fe koagulantem 45 % (Obr. 22). To vysvětluje, proč byla postozonizace účinnější pro vzorky, které byly koagulovány síranem železitým. Pravděpodobná příčina vyšší účinnosti Fe oproti Al již byla diskutována výše v kapitole 5.1.

U postozonizace se neprojevil výraznější vliv pH na účinnost jako tomu bylo v případě předozonizace. Pro dávky ozonu 10 a 14 mg/L byla účinnost odstranění DOC nejnižší při pH 5 v případě obou koagulačních činidel Al i Fe. Kromě toho, ale nebylo pozorováno, že by při některé hodnotě pH dosahovala postozonizace výrazně vyšších nebo naopak nižších účinností ve srovnání s ostatními hodnotami.

Nepodařilo se nalézt studie, které by se zabývaly ozonizací (nebo jinou chemickou oxidací) zařazenou za koagulaci jako krok vedoucí ke zvýšení účinnosti odstraňování organických látek z řas a sinic. Jestliže se některé studie věnují oxidaci ozonem, která je zařazená v procesu úpravy vody za koagulaci, pak se obvykle jedná o závěrečnou dezinfekci vody (Camel & Bermond, 1998; Gunten, 2003; Oh et al., 2003; Ding et al., 2019; Pulicharla et al., 2020). Ozon je totiž silné oxidační činidlo, které se běžně používá při úpravě pitné vody nejen při jejím hygienickém zabezpečení, ale také například k odstranění zákalu, nepříjemné chuti a zápachu nebo k oxidaci kovů (Bose & Reckhow, 2007; Miao & Tao, 2009; Alvarez et al., 2010; de la Cruz et al., 2011). Bylo zjištěno, že dezinfekce ozonem dokáže účinně deaktivovat bakterie a jejich spory přítomné v upravované vodě (Jamil et al., 2017; Ding et al., 2019). Bose & Reckhow, 2007 studovali odstraňování přírodní organické hmoty (NOM) koagulací s předozonizací. Zjistili, že předozonizace zhoršila účinnost odstraňování DOC koagulací, protože ozon přednostně reagoval s huminovou frakcí NOM. Zbylé nehumínové látky ale nebyly koagulací účinně odstraněny. Autoři dospěli k závěru, že obě složky NOM (huminové i nehumínové) mohou být účinně odstraněny za předpokladu, že ozon bude reagovat pouze s nehumínovými látkami. Vyzkoušeli proto surovou vodu nejprve koagulovat a teprve poté dávkovali ozon. Ozonizace předkoagulované surové vody byla účinnější (přibližně o 25 %). Koagulací se totiž odstranily přednostně huminové látky a následná oxidace ozonem odstranila nehumínové látky. Po aplikaci ozonu provedli ještě jednou koagulaci, čímž se účinnost odstranění DOC ještě zvýšila. V této studii tedy využili ozonizaci po koagulaci k tomu, aby dosáhli vyššího odstranění NOM než samotnou koagulací. Zacílili ozonizaci na konkrétní složky NOM, o kterých věděli, že jsou ozonem účinně odstraňovány.

Dále např. Singer et al., 2003 hodnotili dopady předozonizace a tzv. střední ozonizace v kombinaci s koagulací na tvorbu vedlejších produktů dezinfekce vody (DBPs) v upravované vodě. Zkoumali vliv na několik typů přírodních vod, které se navzájem lišily koncentrací celkového organického uhlíku (TOC), zásaditostí a pocházely z jiných geografických oblastí. V případě střední ozonizace, jak autoři proces označili, byl ke vzorkům surové vody dávkován ozon až po koagulaci. V tomto případě nezaznamenali žádnou změnu koncentrací TOC, ale došlo ke snížení UV absorbance. Snížení UV absorbance bylo způsobeno schopností ozonu

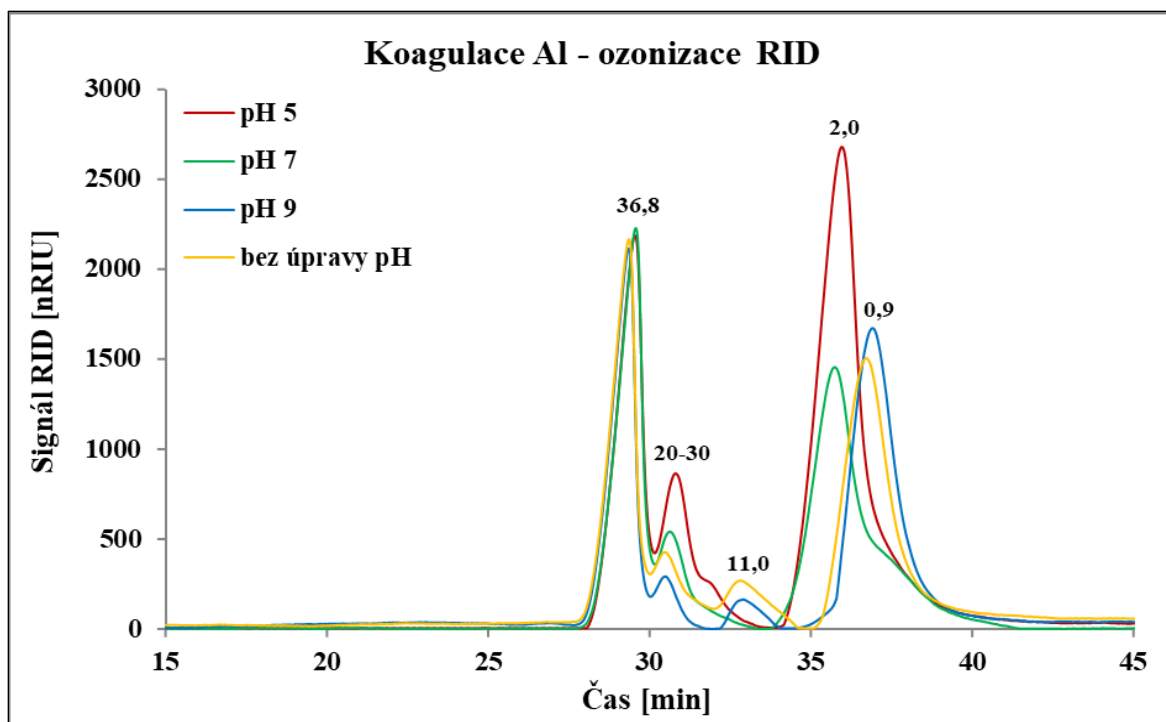
štěpit aromatické sloučeniny a dvojné vazby. Střední ozonizace snížila potenciál tvorby DBPs – konkrétně THM (trihalogenmetany) a HAA (halogenderiváty kyseliny octové), oproti samotné koagulaci. Účinnější z hlediska snížení tvorby DBPs ale byla předozonizace, která snížila hodnoty UV absorbance ve větší míře a vyprodukovala tak méně prekursorů DBPs.



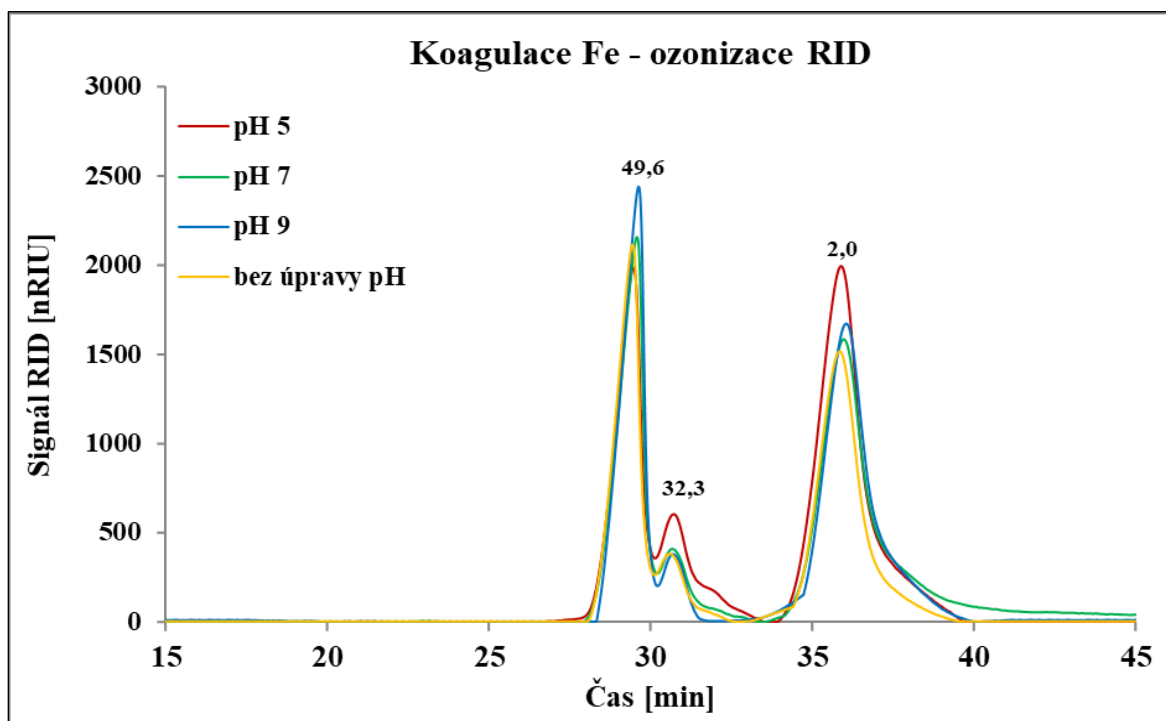
Obr. 21 a 22: Účinnost odstranění DOC vzorku COM *M. aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci síranem hlinitým (nahore) a síranem železitým (dole) bez postozonizace (dávka ozonu 0 mg/L) a s postozonizací dávkami 2,5 – 14 mg/L O₃. Postozonizace proběhla při čtyřech hodnotách pH – 5, 7, 9 a vzorek bez úpravy pH, s hodnotou pH po optimalizované koagulaci. Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku z trojího měření.

Výsledky HPSEC – RID a DAD jsou podobné s výsledky pro vzorky po předozonizaci. I po koagulaci – ozonizaci ze vzorku COM zcela vymizely vysokomolekulární látky a přítomné zůstaly pouze látky o nižších MW (Obr. 23, 24 a 25, 26). Z porovnání síly signálu jak RID, tak DAD je vidět, že signál je téměř o polovinu nižší u vzorků po postozonizaci než u těch po předozonizaci. To odpovídá skutečnosti, že postozonizace vedla k odstranění většího podílu DOC než předozonizace. Zůstaly sice podobné velikostní frakce molekul, ale jejich množství se po postozonizaci snížilo. Singer et al., 2003 zaznamenali úbytek UV absorbance po ozonizaci vzorků přírodní surové vody, což přikládali schopnosti ozonu štěpit aromatické sloučeniny a dvojné vazby. I na výsledcích této práce je na síle signálu DAD viditelné, že se po ozonizaci absorbance oproti samotné koagulaci snižuje (Obr. 17, 18 a 8) a ještě nižší je potom v případě postozonizace (Obr. 25 a 26). Na rozdíl od výsledků v této diplomové práci byla v jejich případě účinnější předozonizace než tzv. střední ozonizace, kdy byla ozonizace zařazená až za koagulaci. Předozonizace dosahovala totiž většího snížení UV absorbance. Autoři této studie ale používali vzorek přírodní vody tvořený různými látkami, lišil se pouze obsah TOC. Neprováděli tedy ozonizaci přímo AOM.

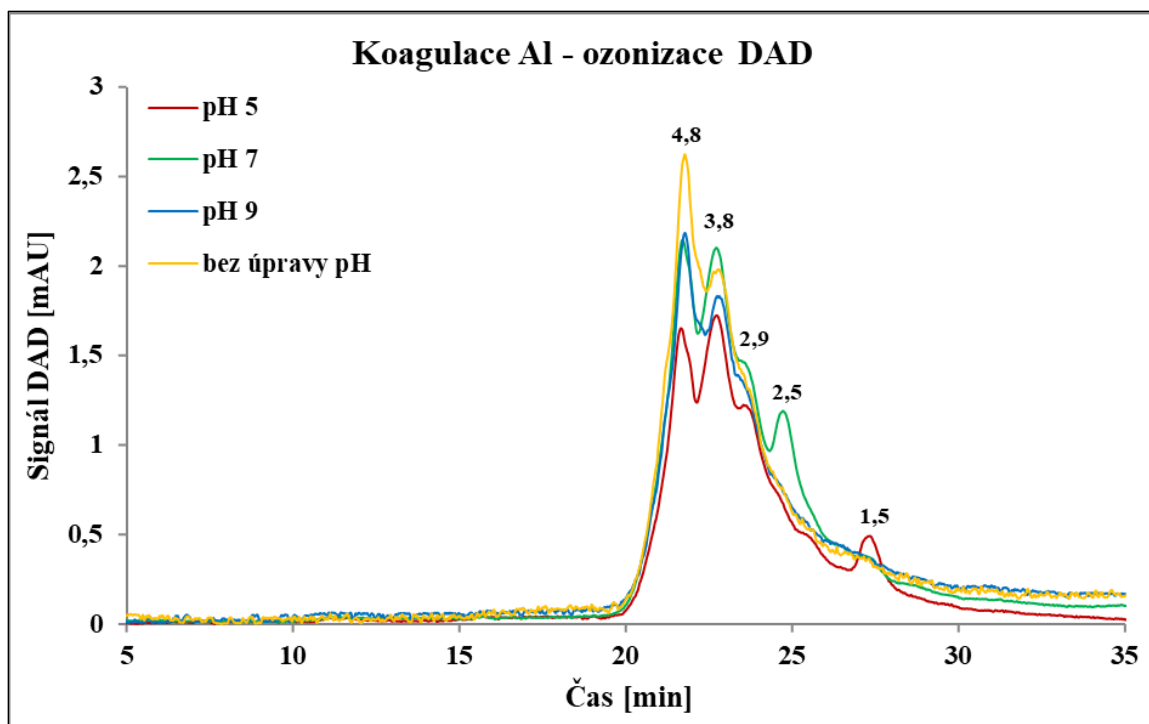
Distribuce molekulových hmotností vzorků po postozonizaci (Obr. 23 a 24) zůstala víceméně stejná jako u vzorků po samotné koagulaci (Obr. 7) (stejně jako tomu bylo v případě předozonizace). Vliv pH na účinnost koagulace – ozonizace se neprojevil ani na výsledcích z HPSEC. Zatímco u předozonizace byl na grafech z HPSEC – DAD (Obr. 17 a 18) pozorovatelný vliv pH, v případě postozonizace není viditelný žádný trend (Obr. 25 a 26).



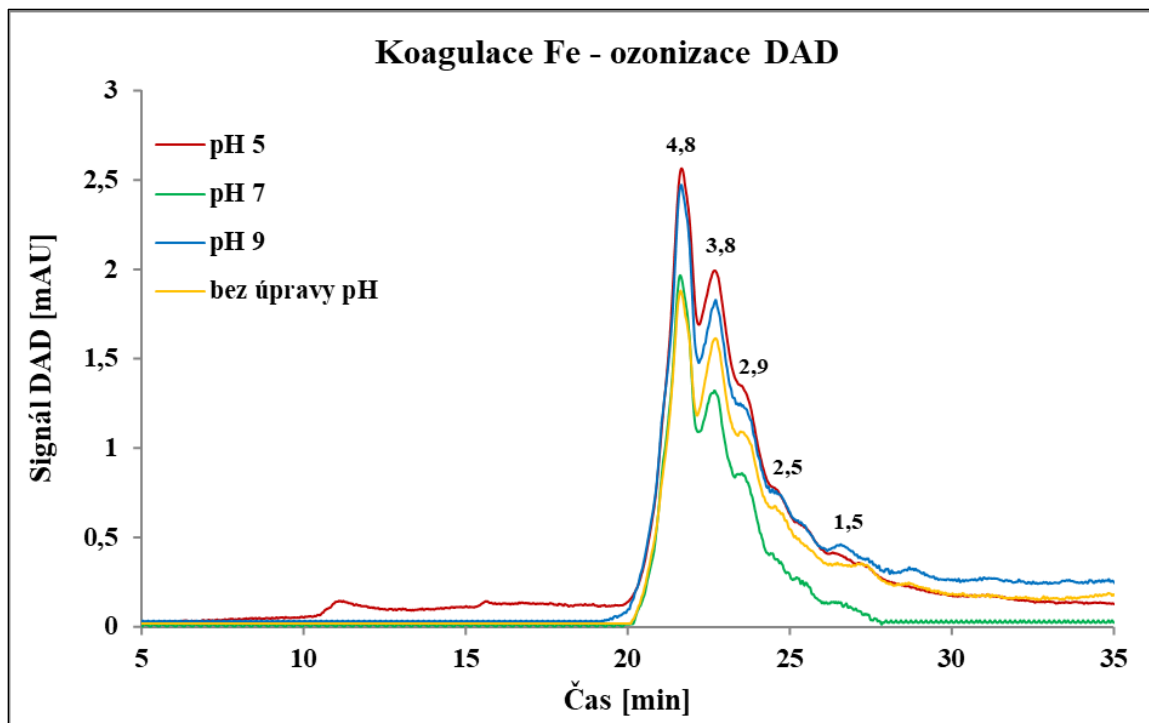
Obr. 23: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s postozonizací. Jako koagulační činidlo byl použit síran hlinitý. Dávka ozonu byla 10 mg/L. Výsledky byly získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem indexu lomu (HPSEC – RID). Vzorky byly před analýzou 20krát zahuštěné. Hodnoty nad vrcholy pík představují MW vyjádřené v kDa.



Obr. 24: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s postozonizací. Jako koagulační činidlo byl použit síran železitý. Dávka ozonu byla 10 mg/L. Výsledky byly získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem indexu lomu (HPSEC – RID). Vzorky byly před analýzou 20krát zahuštěné. Hodnoty nad vrcholy pík představují MW vyjádřené v kDa.



Obr. 25: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s postozonizací. Jako koagulační činidlo byl použit síran hlinitý. Dávka ozonu byla 10 mg/L. Výsledky byly získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem diodového pole při 280 nm (HPSEC – DAD). Vzorky byly před analýzou 20krát zahuštěné. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.



Obr. 26: Distribuce molekulových hmotností (MW) vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s postozonizací. Jako koagulační činidlo byl použit síran železitý. Dávka ozonu byla 10 mg/L. Výsledky byly získané vysokotlakou vylučovací chromatografií s detektorem diodového pole při 280 nm (HPSEC – DAD). Vzorky byly před analýzou 20krát zahuštěné. Hodnoty nad vrcholy píků představují MW vyjádřené v kDa.

5.5 Výsledky měření koncentrace microcystinů

Ve vzorku COM *Microcystis aeruginosa* používaném v této práci bylo analyzováno celkem šest různých variant microcystinů: MC-LF, MC-LR, MC-LW, MC-LY, MC-RR, MC-YR. Celková koncentrace všech těchto microcystinů představovala $23,96 \pm 1,17 \mu\text{g/L}$ toxinů ve vzorku COM o koncentraci 10 mg/L. Nejvíce zastoupené byly MC-RR a MC-LR. Naopak nejnižší koncentrace dosahoval MC-LY (Tabulka 1). Největší pozornost je věnovaná microcystinu-LR. Pro ten také, jako pro jediný, WHO stanovila limit v pitné vodě $1 \mu\text{g/L}$ (WHO, 2017). Také v české legislativě je Vyhláškou č. 252/2004 Sb. stanoven pro tento microcystin limit $1 \mu\text{g/L}$. V použitém vzorku surových COM byl tento limit překročen 8krát, jelikož koncentrace MC-LR ve vzorku byla $8,63 \pm 0,38 \mu\text{g/L}$. Ještě vyšší koncentraci měl ale MC-RR ($9,96 \pm 0,35 \mu\text{g/L}$). To je v souladu s výsledky Bouhaddada et al., 2016, kteří také identifikovali MC-RR jako hlavní variantu MC ve vzorku *Microcystis* spp. odebraného z eutrofního jezera des Oiseaux v severovýchodním Alžírsku. Microcystin-RR tvořil 43,4 % z celkového množství microcystinů. Autoři detekovali také další varianty MC, kromě MC-RR a MC-LR ještě MC-FR, MC-WR, MC-YR, MC-LA a další. Dále například Okello et al., 2010 objevili MC-RY, MC-YR, MC-RR, MC-LR ve vzorcích odebraných z jezer ve východní Africe, kde dominoval rod *Microcystis*. MC-RR byl druhý nejzastoupenější microcystin, zatímco MC-LR byl zastoupen pouze z 11 %. Spolu s výsledky této diplomové práce to dokazuje, že větší pozornost, jak z hlediska výzkumu, tak i z hlediska nastavení limitů pro pitnou vodu, by měla být věnována také ostatním variantám microcystinů a nejenom MC-LR. Zejména proto, že i jiné varianty microcystinů se mohou vyskytovat ve větších koncentracích (Okello et al., 2010; Bouhaddada et al., 2016; Díez-Quijada et al., 2019).

Kromě surového vzorku COM byly koncentrace microcystinů měřeny také ve vzorcích po koagulaci Al/Fe, po ozonizaci, po předozonizaci (ozonizace – koagulace) a po postozonizaci (koagulace – ozonizace).

5.5.1 Vliv koagulace na microcystiny

Měření koncentrace microcystinů po optimalizované koagulaci s Al a Fe ukázalo, že samotná koagulace není při odstraňování microcystinů dostačující. I když koncentrace v případě většiny variant microcystinů mírně poklesly (Tabulka 1). MC-LR stále zůstal mnohonásobně nad limitem $1 \mu\text{g/L}$. Celková koncentrace microcystinů po koagulaci klesla z původních $23,96 \pm 1,17 \mu\text{g/L}$ na $20,7 \pm 1,26 \mu\text{g/L}$, když byl použit síran hlinitý jako koagulační činidlo a na $20,24 \pm 1,43 \mu\text{g/L}$, když byl použit síran železitý. Účinnost odstranění microcystinů byla tedy pouze necelých 15 %. Nízká účinnost odstranění microcystinů je

pravděpodobně dána tím, že microcystiny mají nízkou molekulovou hmotnost (Kopecká et al., 2014). Již dříve bylo diskutováno, že nízkomolekulární látky nejsou příliš ochotné koagulovat (Matilainen et al., 2010; Barešová et al., 2017; Načeradská et al., 2019a). Vysoké koncentrace microcystinů po samotné koagulaci zaznamenali také Načeradská et al., 2017. Ti koagulovali peptidy/proteiny COM sinice *M. aeruginosa*. Zbytkové koncentrace microcystinů byly po koagulaci se síranem železitým 1,4 – 11,2 µg/L pro počáteční koncentrace DOC 1, 3, 5 a 8 mg/L. Koncentrace microcystinů byla uváděna jako součet koncentrací jednotlivých variant MC-LR, RR a YR. Již dříve bylo zjištěno, že konvenční metody úpravy vody, jako je právě koagulace, nedokážou účinně odstranit cyanotoxiny. Je proto potřeba přidat ke konvenčním procesům úpravy ještě další procesy, například chemickou oxidaci nebo adsorpci na aktivní uhlí (Himberg et al., 1989).

Tabulka 1: Koncentrace microcystinů (µg/L) ve vzorku COM *Microcystis aeruginosa* před koagulací a po koagulaci s koagulačními činidly síranem hliníovým a síranem železitým. Počáteční koncentrace DOC = 10 mg/L. Použité dávky koagulačních činidel byly 6,5 mg/L hliníku a 13,6 mg/L železa. Chyby představují směrodatnou odchylku z trojího měření.

| | MC-LF | MC-LR | MC-LW | MC-LY | MC-RR | MC-YR |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| COM | 0,43 ± 0,02 | 8,63 ± 0,38 | 0,45 ± 0,02 | 0,20 ± 0,05 | 9,96 ± 0,35 | 4,29 ± 0,35 |
| Koagulace Al | 0,27 ± 0,01 | 8,01 ± 0,59 | 0,43 ± 0,06 | 0,30 ± 0,02 | 8,02 ± 0,22 | 3,67 ± 0,36 |
| Koagulace Fe | 0,32 ± 0,04 | 8,19 ± 0,58 | 0,45 ± 0,16 | 0,39 ± 0,05 | 7,34 ± 0,34 | 3,55 ± 0,26 |

5.5.2 Vliv ozonizace na microcystiny

Vzorky COM *M. aeruginosa* přirozeně obsahující směs výše vyjmenovaných microcystinů byly ozonizovány dávkami ozonu 1, 2, 4, 8, 10 mg/L (0,1; 0,2; 0,4; 0,8 a 1 mg O₃/mg DOC). Opět byly tři různé hodnoty pH ozonizace – 5, 7 a 9. Počáteční koncentrace DOC byla 10 mg/L. Výsledky měření koncentrace toxinů po ozonizaci ukázaly, že ozon odstraňuje microcystiny účinněji než samotná koagulace (Tabulka 2). Účinnost odstranění se ale lišila v závislosti na dávce ozonu a na ozonizačním pH. Čím vyšší byla dávka ozonu, tím bylo odstranění microcystinů účinnější. Co se týče hodnot pH, nejméně účinný byl ozon při ozonizačním pH 9.

Dávka ozonu 1 mg/L snížila koncentrace microcystinů o 26 % při ozonizačním pH 5, o 30 % při pH 7 a pouze o 13 % při pH 9 (Tabulka 2). Při aplikování dávky ozonu 4 mg/L již nebyly microcystiny detekovány, a/nebo byly pod limitem kvantifikace (LOQ) při pH ozonizace 5 a 7. Při pH 9 byly přítomné stále všechny microcystiny mimo MC-LW, jenž byl pod LOQ. Celková koncentrace microcystinů byla při pH 9 s dávkou ozonu 4 mg/L stále poměrně vysoká, konkrétně 11,9 ± 0,6 µg/L a snížila se tak přibližně o 50 % (Tabulka 2). Až

s dávkou ozonu 8 mg/L se podařilo účinně odstranit všechny microcystiny. To potvrzují také výsledky analýzy HPSEC – DAD. Po ozonizaci vzorku COM zmizel vrchol pro molekuly o velikosti 0,9 kDa (Obr. 6 a 14), jenž pravděpodobně odpovídá právě microcystinům (Kopecká et al., 2014). Zatímco po koagulaci vzorku COM vrchol pro 0,9 kDa zůstává (Obr. 8).

Rozdílná účinnost odstranění pro jednotlivé hodnoty pH opět souvisí s různými cestami oxidace ozonem – v kyselější oblasti pH je převažujícím oxidačním činidlem molekulární ozon (O_3) a při alkalických hodnotách pH hydroxylové radikály ($\cdot OH$) (Gunten, 2003). Navíc se se zvyšující hodnotou pH zvyšuje i rychlost rozkladu ozonu (Forni et al., 1982; Staehelin & Hoigne, 1985; Gunten, 2003), jelikož v alkalické oblasti pH je rozklad ozonu urychlován hydroxidovými anionty (OH^-) (Rositano et al., 1998; Gunten, 2003). Což potvrdily také výsledky rozpadu ozonu v přítomnosti vzorku COM v této práci (Obr. 11) – při pH 9 se ozon rozkládal rychleji než při pH 5 a 7 a ve vzorku nebyl detekován již po 3 minutách od nadávkování ani s nejvyšší dávkou ozonu 8 mg/L. Navíc právě molekulární ozon O_3 reaguje s microcystiny velice ochotně. To je dáno jeho selektivitou vůči dvojným vazbám a aminoskupinám ve struktuře microcystinů, které oxiduje i s vysokou rychlostí (Rositano et al., 2001; Gunten, 2003; Rodríguez et al., 2007b; Miao & Tao, 2009; Westrick et al., 2010). Konjugované dvojné vazby jsou přítomné ve skupině Adda, která je odpovědná za toxicitu microcystinů, takže ozon dokáže tyto toxiny selektivně detoxikovat (Gunten, 2003; Onstad et al., 2007; de la Cruz et al., 2011). Nicméně také hydroxylové radikály ($\cdot OH$) jsou schopné účinné degradace microcystinů (Onstad et al., 2007; Chang et al., 2015). Na rozdíl od O_3 , který reaguje selektivně, jsou radikály $\cdot OH$ silným a neselektivním oxidačním činidlem (Gunten, 2003; Widrig et al., 1996) a jsou rychle spotřebovávány na oxidaci COM. Onstad et al., 2007 zjistili, že se zvyšující se koncentrací přírodní organické hmoty (NOM) se snižoval podíl $\cdot OH$ na oxidaci MC-LR. Radikály $\cdot OH$ jsou totiž spotřebovávány NOM. Také Miao & Tao, 2009 zjistili, že DOC v roztoku může inhibovat rozklad microcystinů (MC-LR a MC-RR) v důsledku konkurenční reakce s ozonem. Když byly ozonem oxidované pouze čisté microcystiny v minerální vodě byla účinnost degradace MC-RR až 89,3 % a MC-LR až 95,7 % s dávkou ozonu 5 mg/L (počáteční koncentrace microcystinů byla 15 $\mu g/L$). V přítomnosti EOM a COM *M. aeruginosa* se ale účinnost degradace microcystinů snížila téměř o 20 %. Čím vyšší byly koncentrace DOC, tím méně microcystinů bylo odstraněno.

Co se týče vlivu pH na účinnost degradace microcystinů, již dřívější studie zjistily, že zvýšení hodnoty pH zhoršilo účinnost degradace microcystinů (Rositano et al., 1998; Al Momani & Jarrah, 2010). Zjistily, že ozon je za alkalických podmínek méně účinný vzhledem k jeho nižšímu oxidačnímu potenciálu (1,24 V) ve srovnání s kyselými podmínkami pH (2,07

V). Např. Rositano et al., 1998 pozorovali při ozonizaci MC-LR (o počáteční koncentraci 250 µg/L) ve vzorku COM *M. aeruginosa*, že při pH > 7,5 zůstávají přítomné zbytkové koncentrace MC-LR (aplikovaná dávka ozonu 1 mg/L). Zatímco když ozonizovali vzorek COM při pH 2,5 – 7,5 stejnou dávkou ozonu, nebyly detekovány žádné zbytkové koncentrace microcystinů.

Obecně z výsledků této diplomové práce vyplývá, že je-li zvolená vhodná dávka ozonu, pak je možné účinně odstranit všechny microcystiny dokonce v alkalické oblasti pH a to i v přítomnosti jiných organických látek. Za zmínku stojí, že tato práce jako jedna z mála zkoumá degradaci microcystinů v přírodním vzorku COM, kde se microcystiny vyskytovaly přirozeně jako součást COM. Výše zmíněné studie pracovaly vždy s microcystiny izolovanými z AOM a přidávanými do vody použité k experimentům, ať už to byla voda bez dalších organických látek nebo voda s obsahem NOM či AOM.

Tabulka 2: Koncentrace microcystinů (µg/L) ve vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po ozonizaci dávkami 1, 2, 4, 8 a 10 mg/L při třech různých hodnotách pH ozonizace – 5, 7 a 9. Chyby představují směrodatnou odchylku z trojího měření.

| Dávka ozonu [mg/L] | pH ozonizace | MC-LF | MC-LR | MC-LW | MC-LY | MC-RR | MC-YR |
|--------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0 | - | 0,43 ± 0,02 | 8,63 ± 0,38 | 0,45 ± 0,02 | 0,20 ± 0,05 | 9,96 ± 0,35 | 4,29 ± 0,35 |
| 1 | 5 | 0,44 ± 0,16 | 6,87 ± 0,32 | <LOQ | 0,21 ± 0,06 | 7,23 ± 0,32 | 3,03 ± 0,12 |
| | 7 | 0,45 ± 0,04 | 6,75 ± 0,28 | <LOQ | 0,20 ± 0,02 | 6,14 ± 0,19 | 3,12 ± 0,15 |
| | 9 | 0,47 ± 0,05 | 8,07 ± 0,48 | <LOQ | 0,28 ± 0,03 | 8,57 ± 0,43 | 3,57 ± 0,21 |
| 2 | 5 | <LOQ | 0,32 ± 0,08 | n.d. | <LOQ | 0,70 ± 0,04 | 0,38 ± 0,09 |
| | 7 | 0,40 ± 0 | 1,43 ± 0,19 | <LOQ | <LOQ | 1,85 ± 0,16 | 0,98 ± 0,04 |
| | 9 | 0,43 ± 0,03 | 6,68 ± 0,59 | 0,56 ± 0,04 | 0,24 ± 0,05 | 6,64 ± 0,28 | 2,64 ± 0,13 |
| 4 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |
| | 9 | 0,49 ± 0,07 | 4,96 ± 0,12 | <LOQ | 0,25 ± 0,03 | 4,42 ± 0,21 | 1,75 ± 0,17 |
| 8 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 9 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 10 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 9 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |

Označení n.d. znamená nedetekované; LOQ je limit kvantifikace a LOD limit detekce.

5.5.3 Vliv předozonizace a postozonizace na microcystiny

Před optimalizovanou koagulací byly vzorky COM ozonizovány dávkami ozonu 1, 2, 4, 7,5 a 10 mg/L (0,1; 0,2; 0,4; 0,75 a 1 mg O₃/mg DOC). Ozon byl ke vzorkům přidáván při třech různých hodnotách pH – 5, 7 a 9. V případě postozonizace byl ozon dávkován až po

optimalizované koagulaci a aplikované dávky byly 2,5; 5; 7,5; 10 a 14 mg/L O₃ (0,25; 0,5; 0,75; 1 a 1,4 mg O₃/mg DOC). Ke třem vzorkům s pH ozonizace 5, 7 a 9 přibyl ještě vzorek, kterému nebyla po koagulaci hodnota pH upravena (zůstala hodnota pH po optimalizované koagulaci 6 – 7).

Výsledky koncentrace microcystinů ve vzorcích po předozonizaci (ozonizaci – koagulaci) jsou podobné jako výsledky samotné ozonizace. S rostoucí dávkou ozonu se zvyšovala účinnost odstranění microcystinů (Tabulka 3 a 4). Od dávky ozonu 4 mg/L nebyly microcystiny detekovány nebo byly pod LOQ. Výjimku představuje pouze ozonizace před koagulací se síranem železitým při pH 9, kde byly naměřené koncentrace některých MC i pro dávku 4 mg/L O₃. Opět se projevil vliv pH na účinnost odstraňování microcystinů – účinnost se snižovala se zvyšující se hodnotou pH. Tedy nejnižší účinnosti dosahovala předozonizace při pH 9. Celkově byla předozonizace a následná koagulace účinnější než ozonizace v porovnání vždy stejné dávky a stejné hodnoty pH ozonizace. V průměru byla předozonizace účinnější o necelých 19 %. K tomu pravděpodobně přispěla koagulace, která je sama o sobě schopná alespoň částečně microcystiny odstranit.

Ozonizace se tedy ukázala jako účinná metoda při odstraňování microcystinů z vody. Bohužel ale v případě ozonizace – koagulace je úplné odstranění microcystinů na úkor snížení účinnosti koagulace COM. Je proto nezbytné zvážit zařazení ozonizace do systému úpravy vody a jednoznačně je třeba optimalizovat podmínky, při kterých ozonizace probíhá.

Na základě pokusů v této diplomové práci se jako slibnější metoda jeví postozonizace. Zařazení ozonizace až za koagulaci vedlo k odstranění všech microcystinů již s dávkou ozonu 2,5 mg/L při pH ozonizace 5 a 7 a při neupravených hodnotách pH po koagulaci. Při pH 9 byly detekovány jen některé microcystiny (MC-LR, MC-RR, MC-YR) (Tabulka 5 a 6). Navíc postozonizace nezpůsobila snížení účinnosti odstraňování COM, ale naopak účinnost ještě zvýšila. Tedy ozonizace po koagulaci dokázala zvýšit účinnost odstranění COM, a navíc vedla k degradaci microcystinů ve vzorku COM.

Tabulka 3: Koncentrace microcystinů (µg/L) ve vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s předozonizací dávkami ozonu 1, 2, 4, 7,5 a 10 mg/L při třech různých hodnotách pH ozonizace – 5, 7 a 9. Jako koagulační činidlo byl použit síran hlinitý (6,5 mg/L). Chyby představují směrodatnou odchylku z trojího měření.

| Dávka ozonu [mg/L] | pH ozonizace | MC-LF | MC-LR | MC-LW | MC-LY | MC-RR | MC-YR |
|--------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0 | - | 0,27 ± 0,01 | 8,01 ± 0,59 | 0,43 ± 0,06 | 0,30 ± 0,02 | 8,02 ± 0,22 | 3,67 ± 0,36 |
| 1 | 5 | 0,22 ± 0,04 | 0,53 ± 0,05 | n.d. | <LOQ | 0,87 ± 0,02 | 0,36 ± 0,06 |
| | 7 | 0,23 ± 0,05 | 6,54 ± 0,44 | 0,22 ± 0,05 | 0,21 ± 0,01 | 6,83 ± 0,47 | 3,25 ± 0,23 |
| | 9 | 0,29 ± 0,08 | 5,59 ± 0,57 | 0,39 ± 0,11 | 0,22 ± 0,01 | 6,46 ± 0,35 | 3,26 ± 0,38 |
| 2 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,14 ± 0 | n.d. |
| | 7 | <LOQ | 1,06 ± 0,05 | <LOQ | <LOQ | 1,36 ± 0,06 | 0,62 ± 0,03 |
| | 9 | 0,31 ± 0,02 | 6,03 ± 0,55 | <LOQ | 0,24 ± 0,02 | 5,67 ± 0,43 | 2,57 ± 0,36 |
| 4 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 9 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |
| 7,5 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 9 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 10 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |
| | 9 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |

Označení n.d. znamená nedetekované; LOQ je limit kvantifikace a LOD limit detekce.

Tabulka 4: Koncentrace microcystinů (µg/L) ve vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s předozonizací dávkami ozonu 1, 2, 4, 7,5 a 10 mg/L při třech různých hodnotách pH ozonizace – 5, 7 a 9. Jako koagulační činidlo byl použit síran železitý (13,6 mg/L). Chyby představují směrodatnou odchylku z trojího měření.

| Dávka ozonu [mg/L] | pH ozonizace | MC-LF | MC-LR | MC-LW | MC-LY | MC-RR | MC-YR |
|--------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0 | - | 0,32 ± 0,04 | 8,19 ± 0,58 | 0,45 ± 0,16 | 0,39 ± 0,05 | 7,34 ± 0,34 | 3,55 ± 0,26 |
| 1 | 5 | 0,26 ± 0,04 | 0,58 ± 0,05 | n.d. | <LOQ | 0,94 ± 0,03 | 0,41 ± 0,06 |
| | 7 | <LOQ | 2,87 ± 0,38 | <LOQ | <LOQ | 4,55 ± 0,45 | 1,39 ± 0,23 |
| | 9 | 0,23 ± 0,01 | 5,96 ± 0,55 | <LOQ | 0,17 ± 0,01 | 6,83 ± 0,32 | 2,33 ± 0,36 |
| 2 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |
| | 7 | 0,20 ± 0,02 | 1,30 ± 0,07 | <LOQ | <LOQ | 1,61 ± 0,06 | 0,51 ± 0,04 |
| | 9 | <LOQ | 6,78 ± 0,58 | <LOQ | 0,18 ± 0,02 | 7,26 ± 0,39 | 2,62 ± 0,32 |
| 4 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 9 | 0,20 ± 0,01 | 0,75 ± 0,01 | <LOQ | <LOQ | 1,19 ± 0,01 | 0,37 ± 0,03 |
| 7,5 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 9 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| 10 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |
| | 9 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | <LOQ | n.d. |

Označení n.d. znamená nedetekované; LOQ je limit kvantifikace a LOD limit detekce.

Tabulka 5: Koncentrace microcystinů (µg/L) ve vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s postozonizací dávkou ozonu 2,5 mg/L při čtyřech hodnotách pH ozonizace – 5, 7, 9 a při pH po optimalizované koagulaci (bez úpravy, v rozmezí 6 – 7). Pro dávky ozonu 5, 7,5, 10 a 14 mg/L byly všechny microcystiny nedetekovatelné. Jako koagulační činidlo byl použit síran hlinitý (6,5 mg/L). Chyby představují směrodatnou odchylku z trojího měření.

| Dávka ozonu [mg/L] | pH ozonizace | MC-LF | MC-LR | MC-LW | MC-LY | MC-RR | MC-YR |
|--------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0 | - | 0,27 ± 0,01 | 8,01 ± 0,59 | 0,43 ± 0,06 | 0,30 ± 0,02 | 8,02 ± 0,22 | 3,67 ± 0,36 |
| 2,5 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 9 | n.d. | 0,27 ± 0,02 | n.d. | n.d. | 0,15 ± 0,01 | 0,05 ± 0 |
| | po koagulaci | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |

Označení n.d. znamená nedetekované.

Tabulka 6: Koncentrace microcystinů (µg/L) ve vzorku COM *Microcystis aeruginosa* (počáteční DOC = 10 mg/L) po optimalizované koagulaci s postozonizací dávkou ozonu 2,5 mg/L při čtyřech hodnotách pH ozonizace – 5, 7, 9 a při pH po optimalizované koagulaci (bez úpravy, v rozmezí 6 – 7). Pro dávky ozonu 5, 7,5, 10 a 14 mg/L byly všechny microcystiny nedetekovatelné. Jako koagulační činidlo byl použit síran železitý (13,6 mg/L). Chyby představují směrodatnou odchylku z trojího měření.

| Dávka ozonu [mg/L] | pH ozonizace | MC-LF | MC-LR | MC-LW | MC-LY | MC-RR | MC-YR |
|--------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0 | - | 0,32 ± 0,04 | 8,19 ± 0,58 | 0,45 ± 0,16 | 0,39 ± 0,05 | 7,34 ± 0,34 | 3,55 ± 0,26 |
| 2,5 | 5 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 7 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| | 9 | n.d. | 0,25 ± 0,01 | n.d. | n.d. | 0,14 ± 0,01 | 0,05 ± 0 |
| | po koagulaci | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |

Označení n.d. znamená nedetekované.

6 Závěr

Hlavním cílem této diplomové práce bylo zjistit, jaký vliv bude mít ozonizace v kombinaci s koagulací na odstranění COM (celulární organické látky) sinice *Microcystis aeruginosa*. Byla sledována nejprve účinnost odstraňování těchto organických látek samotným procesem koagulace a samotnou ozonizací. Následně byly tyto dva procesy kombinovány a byl sledován jejich společný účinek na odstranění COM. Ozonizace tak byla aplikována buď před koagulací anebo až po koagulaci. Sledován byl také vliv ozonu na koncentraci microcystinů, které jsou přirozenou součástí vzorku COM.

Sklenicovou optimalizační zkouškou bylo zjištěno, že samotný proces koagulace nebyl dostačující k odstranění COM sinice *M. aeruginosa*. Maximální účinnosti odstranění COM 38 – 44 % bylo dosaženo, když byl použit síran hlinitý jako koagulační činidlo, a 44 – 50 %, když byl použit síran železitý. Výsledky distribuce molekulových hmotností (MW) ukázaly, že koagulace jak s Al, tak s Fe činidlem odstraňuje přednostně vysokomolekulární látky. Látky s nižší MW jsou koagulací hůře odstranitelné.

Zkoumání účinků ozonizace COM ukázalo, že ozon není dostatečně silným oxidačním činidlem na to, aby zcela zoxidoval organické látky přítomné ve vzorku COM. Po ozonizaci byl pozorován pouze mírný pokles koncentrací DOC. S nejvyšší dávkou ozonu 10 mg/L poklesly koncentrace DOC o 7 % při ozonizačním pH 9, což byl maximální pokles DOC, kterého se podařilo ozonizací dosáhnout. Ukázalo se, že účinnější byl ozon při vyšších hodnotách pH, konkrétně při pH 9 oproti pH 5 a 7. Ozonizace ale způsobila změnu v zastoupení jednotlivých velikostních frakcí molekul ve vzorku COM. Vedla k rozkladu frakcí s vysokou MW na frakce s nízkou MW. Tento účinek byl výraznější s rostoucí dávkou ozonu a v kyselé oblasti pH, při pH 5.

Předozonizace, tedy ozonizace, za níž následovala koagulace, způsobila snížení účinnosti koagulace COM. Tento účinek byl výraznější se zvyšující se dávkou ozonu a při nižších hodnotách pH ozonizace. K většímu snížení účinnosti došlo při koagulaci síranem hlinitým. Možnou příčinou snížené účinnosti koagulace po předchozí ozonizaci vzorku COM je pravděpodobně degradace vysokomolekulárních látek na látky s nižší MW, ke které dochází působením ozonu. Zařazení ozonizace až za optimalizovanou koagulaci vedlo ke zvýšení účinnosti odstranění DOC. Opět byl tento účinek výraznější se zvyšující se dávkou ozonu. Na rozdíl od předozonizace se neprojevil vliv pH. Účinnější byla ale opět postozonizace po koagulaci síranem železitým.

Všechny sledované varianty microcystinů (MC-LF, MC-LR, MC-LW, MC-LY, MC-RR, MC-YR), které se přirozeně vyskytovaly ve vzorku COM, byly ozonem účinně eliminovány. Při nižších dávkách ozonu $< 4 \text{ mg/L O}_3$ hrálo významnou roli při degradaci microcystinů pH ozonizace. Účinnější v tomto případě bylo jejich odstranění ozonem při nižších hodnotách pH. Nejúčinněji byly microcystiny eliminovány ozonizací po koagulaci (postozonizace).

Výsledky ukazují, že ozonizace zařazená před koagulací není vhodnou metodou k podpoře koagulace COM *M. aeruginosa*, jelikož předozonizace snižovala účinnost koagulace. Ozon se nicméně ukázal jako velmi účinný prostředek k eliminaci microcystinů obsažených ve vzorku COM. I když účinně odstranil microcystiny po předozonizaci, bylo to na úkor účinnosti odstranění organických látek. Vzhledem k tomu, že předozonizace snižovala účinnost koagulace, jeví se jako vhodnější metoda postozonizace. Ta naopak účinnost odstranění COM zvýšila. Navíc i v případě postozonizace byly microcystiny ozonem eliminovány, a to s větší účinností než v případě předozonizace. Je však nezbytné optimalizovat podmínky nejen koagulace, ale také ozonizace. Důležité je stanovit vhodnou dávku ozonu, ale také zvolit vhodné pH ozonizace. Optimalizace podmínek ozonizace má větší význam zejména v případě, je-li ozonizace aplikována ještě před koagulací, aby se co nejvíce zmírnily negativní dopady na koagulaci.

7 Použitá literatura

- Al Momani, F. A., & Jarrah, N. (2010). Treatment and kinetic study of cyanobacterial toxin by ozone. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 45(6), 719–731. <https://doi.org/10.1080/10934521003648933>
- Al Momani, F., Smith, D. W., & Gamal El-Din, M. (2008). Degradation of cyanobacteria toxin by advanced oxidation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 150(2), 238–249. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.04.087>
- Alvarez, M. B., Rose, J. B., Bellamy, B., Water Research Foundation., Cocoa (Fla.), St. Johns River Water Management District (Fla.), & Melbourne (Fla.). (2010). Treating algal toxins using oxidation, adsorption, and membrane technologies. In *Water Research Foundation*.
- American Water Works Association. (2015). *Draft white paper on cyanotoxin treatment*.
- Baird, R. B., Eaton, A. D., & Rice, E. W. (2017). *STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, 23RD EDITION*. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.
- Bandala, E. R., Martínez, D., Martínez, E., & Dionysiou, D. D. (2004). Degradation of microcystin-LR toxin by Fenton and Photo-Fenton processes. *Toxicon*, 43(7), 829–832. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2004.03.013>
- Baresova, M., Pivokonsky, M., Novotna, K., Naceradska, J., & Branyik, T. (2017). An application of cellular organic matter to coagulation of cyanobacterial cells (Merismopedia tenuissima). *Water Research*, 122, 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.05.070>
- Bell-Ajy, K., Abbaszadegan, M., Ibrahim, E., Verges, D., & LeChevallier, M. (2000). Conventional and optimized coagulation for NOM removal. *Journal / American Water Works Association*, 92(10). <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.2000.tb09023.x>
- Bose, P., & Reckhow, D. A. (2007). The effect of ozonation on natural organic matter removal by alum coagulation. *Water Research*, 41(7), 1516–1524. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.12.027>
- Bouhaddada, R., Nélieu, S., Nasri, H., Delarue, G., & Bouaïcha, N. (2016). High diversity of microcystins in a Microcystis bloom from an Algerian lake. *Environmental Pollution*, 216, 836–844. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.06.055>
- Brazdil, R., Trnka, M., & et. al. (2015). *Historie počasí a podnebí v českých zemích svazek XI: Sucho v českých zemích: minulost, současnost, budoucnost*. Brno: Centrum výzkumu globální změny Akademie věd České republiky, v.v.i.

- Brooke, S., Newcombe, G., Nicholson, B., & Klass, G. (2006). Decrease in toxicity of microcystins LA and LR in drinking water by ozonation. *Toxicon*, 48(8), 1054–1059. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.08.010>
- Bubakova, P., Pivokonsky, M., & Filip, P. (2013). Effect of shear rate on aggregate size and structure in the process of aggregation and at steady state. *Powder Technology*, 235, 540–549. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2012.11.014>
- Camel, V., & Bermond, A. (1998). Review Paper: The Use of Ozone and Associated Oxidation Processes in Drinking Water Treatment. *Water Research*, 32(11), 3208–3222.
- Chang, J., Chen, Z. L., Wang, Z., Kang, J., Chen, Q., Yuan, L., & Shen, J. M. (2015). Oxidation of microcystin-LR in water by ozone combined with UV radiation: The removal and degradation pathway. *Chemical Engineering Journal*, 276, 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.04.070>
- Chen, J. J., & Yeh, H. H. (2005). The mechanisms of potassium permanganate on algae removal. *Water Research*, 39(18), 4420–4428. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.08.032>
- Cheng, X., Liang, H., Ding, A., Qu, F., Shao, S., Liu, B., ... Li, G. (2016). Effects of pre-ozonation on the ultrafiltration of different natural organic matter (NOM) fractions: Membrane fouling mitigation, prediction and mechanism. *Journal of Membrane Science*, 505, 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2016.01.022>
- Chiang, P. C., Chang, E. E., Chang, P. C., & Huang, C. P. (2009). Effects of pre-ozonation on the removal of THM precursors by coagulation. *Science of the Total Environment*, 407(21), 5735–5742. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.07.024>
- Coral, L. A., Zamyadi, A., Barbeau, B., Bassetti, F. J., Lapolli, F. R., & Prévost, M. (2013). Oxidation of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae* by ozone: Impacts on cell integrity and chlorination by-product formation. *Water Research*, 47(9), 2983–2994. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.012>
- de Figueiredo, D. R., Azeiteiro, U. M., Esteves, S. M., Gonçalves, F. J. M., & Pereira, M. J. (2004). Microcystin-producing blooms - A serious global public health issue. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59(2), 151–163. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.04.006>
- de la Cruz, A., G. Antoniou, M., Hiskia, A., Pelaez, M., Song, W., E. O'Shea, K., ... D. Dionysiou, D. (2011). Can We Effectively Degrade Microcystins? - Implications on Human Health. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 11, 19–37. <https://doi.org/10.2174/187152011794941217>

- Díez-Quijada, L., Prieto, A. I., Guzmán-Guillén, R., Jos, A., & Cameán, A. M. (2019). Occurrence and toxicity of microcystin congeners other than MC-LR and MC-RR: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 125(December 2018), 106–132. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.12.042>
- Ding, W., Jin, W., Cao, S., Zhou, X., Wang, C., Jiang, Q., ... Wang, Q. (2019). Ozone disinfection of chlorine-resistant bacteria in drinking water. *Water Research*, 160, 339–349. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.014>
- Duan, J., & Gregory, J. (2003). Coagulation by hydrolysing metal salts. *Advances in Colloid and Interface Science*, 100–102(SUPPL.), 475–502. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(02\)00067-2](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00067-2)
- Dyble J., Fahnenstiel G. L., Litaker R. W., Millie D. F., T. P. A. (2008). Microcystin Concentrations and Genetic Diversity of Microcystis in the Lower Great Lakes. *Environmental Toxicology*, 23, 507–516. <https://doi.org/10.1002/tox>
- Edzwald, J. K. (1993). Coagulation in drinking water treatment: Particles, organics and coagulants. *Water Science and Technology*, 27(11), 21–35. <https://doi.org/10.2166/wst.1993.0261>
- Eke, J., Wagh, P., & Escobar, I. C. (2018). Ozonation, biofiltration and the role of membrane surface charge and hydrophobicity in removal and destruction of algal toxins at basic pH values. *Separation and Purification Technology*, 194, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.11.034>
- Fan, J., Ho, L., Hobson, P., & Brookes, J. (2013). Evaluating the effectiveness of copper sulphate, chlorine, potassium permanganate, hydrogen peroxide and ozone on cyanobacterial cell integrity. *Water Research*, 47(14), 5153–5164. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.057>
- Fang, J., Yang, X., Ma, J., Shang, C., & Zhao, Q. (2010). Characterization of algal organic matter and formation of DBPs from chlor(am)ination. *Water Research*, 44(20), 5897–5906. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.07.009>
- Filipenska, M., Vasatova, P., Pivokonska, L., Cermakova, L., Gonzalez-Torres, A., Henderson, R. K., ... Pivokonsky, M. (2019). Influence of COM-peptides/proteins on the properties of flocs formed at different shear rates. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 80, 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.11.025>
- Forni, L., Bahnemann, D., & Hart, E. J. (1982). Mechanism of the hydroxide ion initiated decomposition of ozone in aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry*, 86(2), 255–259. <https://doi.org/10.1021/j100391a025>

- Garzon-Sanabria, A. J., Ramirez-Caballero, S. S., Moss, F. E. P., & Nikolov, Z. L. (2013). Effect of algogenic organic matter (AOM) and sodium chloride on *Nannochloropsis salina* flocculation efficiency. *Bioresource Technology*, 143, 231–237. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.125>
- Gonzalez-Torres, A., Putnam, J., Jefferson, B., Stuetz, R. M., & Henderson, R. K. (2014). Examination of the physical properties of *Microcystis aeruginosa* flocs produced on coagulation with metal salts. *Water Research*, 60, 197–209. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.046>
- Gunten, U. Von. (2003). Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, 37, 1443–1467. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135402004578>
- Guo, T., Yang, Y., Liu, R., & Li, X. (2017). Enhanced removal of intracellular organic matters (IOM) from *Microcystis aeruginosa* by aluminum coagulation. *Separation and Purification Technology*, 189, 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.06.066>
- Hall, T., Hart, J., Croll, B., & Gregory, R. (2000). Laboratory-Scale Investigations of Algal Toxin Removal by Water Treatment. *JOURNAL OF THE CHARTERED INSTITUTION OF WATER AND ENVIRONMENTAL MANAGEMENT*, 14(2), 143–149.
- He, X., Pelaez, M., Westrick, J. A., O'Shea, K. E., Hiskia, A., Triantis, T., ... Dionysiou, D. D. (2012). Efficient removal of microcystin-LR by UV-C/H₂O₂ in synthetic and natural water samples. *Water Research*, 46(5), 1501–1510. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.009>
- Health Canada. (2017). *Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Guideline Technical Document – Cyanobacterial Toxins - Microcystin-LR*. Retrieved from http://unesdoc.unesco.org/images/0012/001220/122021eo.pdf#xml=http://unesdoc.unesco.org/ulis/cgi-bin/ulis.pl?database=ged&set=3ED4D3DA_1_163&hits_rec=5&hits_lng=eng
- Henderson, R. K., Baker, A., Parsons, S. A., & Jefferson, B. (2008a). Characterisation of algogenic organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms. *Water Research*, 42(13), 3435–3445. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.10.032>
- Henderson, R. K., Parsons, S. A., & Jefferson, B. (2008b). The impact of algal properties and pre-oxidation on solid-liquid separation of algae. *Water Research*, 42(8–9), 1827–1845. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.11.039>
- Henderson, R. K., Parsons, S. A., & Jefferson, B. (2010). The impact of differing cell and algogenic organic matter (AOM) characteristics on the coagulation and flotation of algae. *Water Research*, 44(12), 3617–3624. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.04.016>

- Himberg, K., Keijola, A. M., Hiisvirta, L., Pyysalo, H., & Sivonen, K. (1989). The effect of water treatment processes on the removal of hepatotoxins from *Microcystis* and *Oscillatoria* cyanobacteria: A laboratory study. *Water Research*, 23(8), 979–984. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(89\)90171-1](https://doi.org/10.1016/0043-1354(89)90171-1)
- Hitzfeld, B. C., Höger, S. J., & Dietrich, D. R. (2000). Cyanobacterial toxins: Removal during drinking water treatment, and human risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 108(SUPPL. 1), 113–122. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108s1113>
- Hnatukova, P., Kopecka, I., & Pivokonsky, M. (2011). Adsorption of cellular peptides of *Microcystis aeruginosa* and two herbicides onto activated carbon: Effect of surface charge and interactions. *Water Research*, 45(11), 3359–3368. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.03.051>
- Hoeger, S. J., Dietrich, D. R., & Hitzfeld, B. C. (2002). Effect of ozonation on the removal of cyanobacterial toxins during drinking water treatment. *Environmental Health Perspectives*, 110(11), 1127–1132. <https://doi.org/10.1289/ehp.021101127>
- Horáková, M. (2003). *Analytika vody*. VŠCHT Praha.
- Hoyer, O., Lusse, B., & Bernhardt, H. (1985). Isolation and characterization of extracellular organic matter (EOM) from algae. *Journal for Water and Wastewater Research*, 18(2), 76.
- Huang, W. J., Lai, C. H., & Cheng, Y. L. (2007). Evaluation of extracellular products and mutagenicity in cyanobacteria cultures separated from a eutrophic reservoir. *Science of the Total Environment*, 377(2–3), 214–223. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.075>
- Jamil, A., Farooq, S., & Hashmi, I. (2017). Ozone Disinfection Efficiency for Indicator Microorganisms at Different pH Values and Temperatures. *Ozone: Science and Engineering*, 39(6), 407–416. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1322489>
- Jarvis, P., Sharp, E., Pidou, M., Molinder, R., Parsons, S. A., & Jefferson, B. (2012). Comparison of coagulation performance and floc properties using a novel zirconium coagulant against traditional ferric and alum coagulants. *Water Research*, 46(13), 4179–4187. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.04.043>
- Jasim, S. Y., & Saththasivam, J. (2017). Advanced oxidation processes to remove cyanotoxins in water. *Desalination*, 406, 83–87. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2016.06.031>
- Kopecka, I., Pivokonsky, M., Pivokonska, L., Hnatukova, P., & Safarikova, J. (2014). Adsorption of peptides produced by cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* onto granular activated carbon. *Carbon*, 69, 595–608. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2013.12.072>

- Leloup, M., Nicolau, R., Pallier, V., Yéprémian, C., & Feuillade-Cathalifaud, G. (2013). Organic matter produced by algae and cyanobacteria: Quantitative and qualitative characterization. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 25(6), 1089–1097. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60208-3](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60208-3)
- Li, L., Gao, N., Deng, Y., Yao, J., & Zhang, K. (2012). Characterization of intracellular & extracellular algae organic matters (AOM) of Microcystic aeruginosa and formation of AOM-associated disinfection byproducts and odor & taste compounds. *Water Research*, 46(4), 1233–1240. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.026>
- Li, L., Shao, C., Lin, T. F., Shen, J., Yu, S., Shang, R., ... Gao, N. (2014). Kinetics of cell inactivation, toxin release, and degradation during permanganation of Microcystis aeruginosa. *Environmental Science and Technology*, 48(5), 2885–2892. <https://doi.org/10.1021/es405014g>
- Li, T., Dong, B. Z., Liu, Z., & Chu, W. H. (2011). Characteristic of algogenic organic matter and its effect on UF membrane fouling. *Water Science and Technology*, 64(8), 1685–1691. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.148>
- Li, Tao, Yan, X., Wang, D., & Wang, F. (2009). Impact of preozonation on the performance of coagulated flocs. *Chemosphere*, 75(2), 187–192. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.014>
- Li, W., Zhang, J., Wang, F., Qian, L., Zhou, Y., Qi, W., & Chen, J. (2018). Effect of disinfectant residual on the interaction between bacterial growth and assimilable organic carbon in a drinking water distribution system. *Chemosphere*, 202, 586–597. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.056>
- Liu, B., Qu, F., Chen, W., Liang, H., Wang, T., Cheng, X., ... Van der Bruggen, B. (2017). Microcystis aeruginosa-laden water treatment using enhanced coagulation by persulfate/Fe(II), ozone and permanganate: Comparison of the simultaneous and successive oxidant dosing strategy. *Water Research*, 125, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.035>
- Liu, R., Guo, T., Ma, M., Yan, M., Qi, J., Hu, C., ... van der Meer, W. (2019). Preferential binding between intracellular organic matters and Al13 polymer to enhance coagulation performance. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 76, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.05.011>
- Lovins, W. A., Duranceau, S. J., Gonzalez, R. M., & Taylor, J. S. (2003). Optimized coagulation assessment for a highly organic surface water supply. *Journal / American Water Works Association*, 95(10). <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.2003.tb10477.x>

- Lui, Y. S., Qiu, J. W., Zhang, Y. L., Wong, M. H., & Liang, Y. (2011). Algal-derived organic matter as precursors of disinfection by-products and mutagens upon chlorination. *Water Research*, 45(3), 1454–1462. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.11.007>
- Ma, J., Fang, J. Y., Wang, L. N., Guo, J., & Chen, Z. L. (2006). Effect of preozonation on characteristics of algae cells and algae-derived organic matter (AOM) with respect to their removal by coagulation. *Water Science and Technology: Water Supply*, 6(4), 145–152. <https://doi.org/10.2166/ws.2006.900>
- Ma, Jun, & Liu, W. (2002). Effectiveness and mechanism of potassium ferrate(VI) preoxidation for algae removal by coagulation. *Water Research*, 36(4), 871–878. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00282-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00282-2)
- Ma, M., Liu, R., Liu, H., & Qu, J. (2012a). Chlorination of *Microcystis aeruginosa* suspension: Cell lysis, toxin release and degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 217–218, 279–285. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.03.030>
- Ma, M., Liu, R., Liu, H., Qu, J., & Jefferson, W. (2012b). Effects and mechanisms of pre-chlorination on *Microcystis aeruginosa* removal by alum coagulation: Significance of the released intracellular organic matter. *Separation and Purification Technology*, 86, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.10.015>
- Matilainen, A., Lindqvist, N., & Tuhkanen, T. (2005). Comparison of the efficiency of aluminium and ferric sulphate in the removal of natural organic matter during drinking water treatment process. *Environmental Technology*, 26(8), 867–876. <https://doi.org/10.1080/09593332608618502>
- Matilainen, Anu, Vepsäläinen, M., & Sillanpää, M. (2010). Natural organic matter removal by coagulation during drinking water treatment: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 159(2), 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.06.007>
- Miao, H. F., Qin, F., Tao, G. J., Tao, W. Y., & Ruan, W. Q. (2010). Detoxification and degradation of microcystin-LR and -RR by ozonation. *Chemosphere*, 79(4), 355–361. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.024>
- Miao, H., & Tao, W. (2009). The mechanisms of ozonation on cyanobacteria and its toxins removal. *Separation and Purification Technology*, 66(1), 187–193. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.11.008>
- Naceradska, J., Novotna, K., Cermakova, L., Cajthaml, T., & Pivokonsky, M. (2019a). Investigating the coagulation of non-proteinaceous algal organic matter: Optimizing coagulation performance and identification of removal mechanisms. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 79, 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2018.09.024>

- Naceradska, J., Pivokonska, L., & Pivokonsky, M. (2019b). On the importance of pH value in coagulation. *Journal of Water Supply: Research and Technology - AQUA*, 68(3), 222–230. <https://doi.org/10.2166/aqua.2019.155>
- Naceradska, J., Pivokonsky, M., Pivokonska, L., Baresova, M., Henderson, R. K., Zamyadi, A., & Janda, V. (2017). The impact of pre-oxidation with potassium permanganate on cyanobacterial organic matter removal by coagulation. *Water Research*, 114, 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.02.029>
- Newcombe, G., & Nicholson, B. (2004). Water treatment options for dissolved cyanotoxins. *Journal of Water Supply: Research and Technology - AQUA*, 53(4), 227–239. <https://doi.org/10.2166/aqua.2004.0019>
- Oh, H. J., Kim, W. J., Choi, J. S., Gee, C. S., Hwang, T. M., Kang, J. G., & Kang, J. W. (2003). Optimization and Control of Ozonation Plant Using Raw Water Characterization Method. *Ozone: Science and Engineering*, 25(5), 383–392. <https://doi.org/10.1080/01919510390481702>
- Okello, W., Ostermaier, V., Portmann, C., Gademann, K., & Kurmayer, R. (2010). Spatial isolation favours the divergence in microcystin net production by *Microcystis* in Ugandan freshwater lakes. *Water Research*, 44(9), 2803–2814. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.02.018>
- Onstad, G. D., Strauch, S., Meriluoto, J., Codd, G. A., & Von Gunten, U. (2007). Selective oxidation of key functional groups in cyanotoxins during drinking water ozonation. *Environmental Science and Technology*, 41(12), 4397–4404. <https://doi.org/10.1021/es0625327>
- Ozawa, K., Fujioka, H., Muranaka, M., Yokoyama, A., Katagami, Y., Homma, T., ... Park, H. D. (2005). Spatial distribution and Temporal Variation of *Microcystis* Species Composition and Microcystin Concentration in Lake Biwa. *Environmental Toxicology*, 20(3), 270–276. <https://doi.org/10.1002/tox.20117>
- Paralkar, A., & Edzwald, J. K. (1996). Effect of ozone: On EOM and coagulation. *Journal American Water Works Association*, 88(4), 143–154. <https://doi.org/10.1002/j.1551-8833.1996.tb06540.x>
- Pivokonsky, M., Naceradska, J., Kopecka, I., Baresova, M., Jefferson, B., Li, X., & Henderson, R. K. (2016). The impact of algogenic organic matter on water treatment plant operation and water quality: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 46(4), 291–335. <https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1087369>
- Pivokonsky, Martin, Kloucek, O., & Pivokonska, L. (2006). Evaluation of the production, composition and aluminum and iron complexation of algogenic organic matter. *Water Research*, 40(16), 3045–3052. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.028>

- Pivokonsky, Martin, Naceradska, J., Brabenec, T., Novotna, K., Baresova, M., & Janda, V. (2015). The impact of interactions between algal organic matter and humic substances on coagulation. *Water Research*, 84, 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.07.047>
- Pivokonsky, Martin, Pivokonska, L., Bumeltova, J., & Bubakova, P. (2009a). The effect of cellular organic matter produced by cyanobacteria *microcystis aeruginosa* on water purification. *Journal of Hydrology and Hydromechanics*, 57(2), 121–129. <https://doi.org/10.2478/v10098-009-0011-3>
- Pivokonsky, Martin, Polasek, P., Pivokonska, L., & Tomaskova, H. (2009b). Optimized Reaction Conditions for Removal of Cellular Organic Matter of *Microcystis aeruginosa* During the Destabilization and Aggregation Process Using Ferric Sulfate in Water Purification. *Water Environment Research*, 81(5), 514–522. <https://doi.org/10.2175/106143008x357020>
- Pivokonsky, Martin, Safarikova, J., Baresova, M., Pivokonska, L., & Kopecka, I. (2014). A comparison of the character of algal extracellular versus cellular organic matter produced by cyanobacterium, diatom and green alga. *Water Research*, 51, 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.12.022>
- Pivokonsky, Martin, Safarikova, J., Bubakova, P., & Pivokonska, L. (2012). Coagulation of peptides and proteins produced by *Microcystis aeruginosa*: Interaction mechanisms and the effect of Fe-peptide/protein complexes formation. *Water Research*, 46(17), 5583–5590. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.07.040>
- Pramanik, B. K., Roddick, F. A., & Fan, L. (2015). Treatment of secondary effluent with biological activated carbon to reduce fouling of microfiltration membranes caused by algal organic matter from *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Membrane Science*, 496, 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2015.08.063>
- Pranowo, R., Lee, D. J., Liu, J. C., & Chang, J. S. (2013). Effect of O₃ and O₃/H₂O₂ on algae harvesting using chitosan. *Water Science and Technology*, 67(6), 1294–1301. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.001>
- Pulicharla, R., Proulx, F., Behmel, S., & Jean-b, S. (2020). Trends in Ozonation Disinfection By-Products —. *MDPI - Molecular Diversity Preservation International: Water*, 12(756), 1–22.
- Qu, F., Liang, H., Wang, Z., Wang, H., Yu, H., & Li, G. (2012). Ultrafiltration membrane fouling by extracellular organic matters (EOM) of *Microcystis aeruginosa* in stationary phase: Influences of interfacial characteristics of foulants and fouling mechanisms. *Water Research*, 46(5), 1490–1500. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.051>

- Rahman, M. F., Jasim, S. Y., Yanful, E. K., Ndiongue, S., & Borikar, D. (2010). Advanced oxidation treatment of drinking water: Part II. turbidity, particles and organics removal from Lake Huron water. *Ozone: Science and Engineering*, 32(5), 295–304. <https://doi.org/10.1080/01919512.2010.500900>
- Rodríguez, E., Majado, M. E., Meriluoto, J., & Acero, J. L. (2007a). Oxidation of microcystins by permanganate: Reaction kinetics and implications for water treatment. *Water Research*, 41(1), 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.10.004>
- Rodríguez, E., Onstad, G. D., Kull, T. P. J., Metcalf, J. S., Acero, J. L., & von Gunten, U. (2007b). Oxidative elimination of cyanotoxins: Comparison of ozone, chlorine, chlorine dioxide and permanganate. *Water Research*, 41(15), 3381–3393. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.03.033>
- Rositano, J., Newcombe, G., Nicholson, B., & Sztajn bok, P. (2001). Ozonation of NOM and algal toxins in four treated waters. *Water Research*, 35(1), 23–32. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00252-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00252-9)
- Rositano, J., Nicholson, B. C., & Pieronne, P. (1998). Destruction of cyanobacterial toxins by ozone. *Ozone: Science and Engineering*, 20(3), 223–238. <https://doi.org/10.1080/01919519808547273>
- Rozas, O., Baeza, C., Núñez, K., Rossner, A., Urrutia, R., & Mansilla, H. D. (2017). Organic micropollutants (OMPs) oxidation by ozone: Effect of activated carbon on toxicity abatement. *Science of the Total Environment*, 590–591, 430–439. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.120>
- Sadrnourmohamadi, M., & Gorczyca, B. (2015). Effects of ozone as a stand-alone and coagulation-aid treatment on the reduction of trihalomethanes precursors from high DOC and hardness water. *Water Research*, 73, 171–180. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.01.023>
- Safarikova, J., Baresova, M., Pivokonsky, M., & Kopecka, I. (2013). Influence of peptides and proteins produced by cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on the coagulation of turbid waters. *Separation and Purification Technology*, 118, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.06.049>
- Schneider, M., & Bláha, L. (2020). Advanced oxidation processes for the removal of cyanobacterial toxins from drinking water. *Environmental Sciences Europe*, 32(1). <https://doi.org/10.1186/s12302-020-00371-0>
- Sharma, V. K., Triantis, T. M., Antoniou, M. G., He, X., Pelaez, M., Han, C., ... Dionysiou, D. D. (2012). Destruction of microcystins by conventional and advanced oxidation processes: A review. *Separation and Purification Technology*, 91, 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.02.018>

- Shawwa, A. R., & Smith, D. W. (2001). Kinetics of microcystin-LR oxidation by ozone. *Ozone: Science and Engineering*, 23(2), 161–170. <https://doi.org/10.1080/01919510108961998>
- Shi, X., Bi, R., Yuan, B., Liao, X., Zhou, Z., Li, F., & Sun, W. (2019). A comparison of trichloromethane formation from two algae species during two pre-oxidation-coagulation-chlorination processes. *Science of the Total Environment*, 656, 1063–1070. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.461>
- Singer, P. C., Arlotta, C., Snider-Sajdak, N., & Miltner, R. (2003). Effectiveness of Pre- and Intermediate Ozonation on the Enhanced Coagulation of Disinfection By-product Precursors in Drinking Water. *Ozone: Science and Engineering*, 25(6), 453–471. <https://doi.org/10.1080/01919510390481775>
- Stachelln, J., & Hoigne, J. (1985). Decomposition of Ozone in Water in the Presence of Organic Solutes Acting as Promoters and Inhibitors of Radical Chain Reactions. *Environmental Science and Technology*, 19(12), 1206–1213. <https://doi.org/10.1021/es00142a012>
- Steynberg, M. C., Pieterse, A. J. H., & Geldenhuys, J. C. (1996). Improved coagulation and filtration of algae as a result of morphological and behavioral changes due to pre-oxidation. *J. Wat. Suppl.: Res & Technol.*, 45 (6), 292–298.
- Takaara, T., Sano, D., Konno, H., & Omura, T. (2007). Cellular proteins of *Microcystis aeruginosa* inhibiting coagulation with polyaluminum chloride. *Water Research*, 41(8), 1653–1658. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.01.035>
- Tomiyasu, H., Fukutomi, H., & Gordon, G. (1985). Kinetics and Mechanism of Ozone Decomposition in Basic Aqueous Solution. *Inorganic Chemistry*, 24(19), 2962–2966. <https://doi.org/10.1021/ic00213a018>
- United States Environmental Protection Agency. (2016). *Water Treatment Optimization for Cyanotoxins, Version 1.0* (Vol. 810-B-16–0). <https://doi.org/10.1128/MCB.21.3.743>
- van der Kooij, D., Veenendaal, H. R., Baars-Lorist, C., van der Klift, D. W., & Drost, Y. C. (1995). Biofilm formation on surfaces of glass and Teflon exposed to treated water. *Water Research*, 29(7), 1655–1662. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)00333-3](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)00333-3)
- Vandamme, D., Foubert, I., Fraeye, I., & Muylaert, K. (2012). Influence of organic matter generated by *Chlorella vulgaris* on five different modes of flocculation. *Bioresource Technology*, 124, 508–511. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.08.121>
- Wang, J., & Chen, H. (2020). Catalytic ozonation for water and wastewater treatment: Recent advances and perspective. *Science of the Total Environment*, 704, 135249. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135249>

- Wang, L., Qiao, J., Hu, Y., Wang, L., Zhang, L., Zhou, Q., & Gao, N. (2013). Pre-oxidation with KMnO₄ changes extra-cellular organic matter's secretion characteristics to improve algal removal by coagulation with a low dosage of polyaluminium chloride. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 25(3), 452–459. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60087-4](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60087-4)
- Wei, D., Tao, Y., Zhang, Z., & Zhang, X. (2016). Effect of pre-ozonation on mitigation of ceramic UF membrane fouling caused by algal extracellular organic matters. *Chemical Engineering Journal*, 294, 157–166. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.02.110>
- Wen, G., Zhu, H., Wei, Y., Huang, T., & Ma, J. (2017). Formation of assimilable organic carbon during the oxidation of water containing *Microcystis aeruginosa* by ozone and an advanced oxidation process using ozone/hydrogen peroxide. *Chemical Engineering Journal*, 307, 364–371. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.08.073>
- Westrick, J. A., Szlag, D. C., Southwell, B. J., & Sinclair, J. (2010). A review of cyanobacteria and cyanotoxins removal/inactivation in drinking water treatment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(5), 1705–1714. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3709-5>
- Widrig, D. L., Gray, K. A., & McAuliffe, K. S. (1996). Removal of algal-derived organic material by preozonation and coagulation: Monitoring changes in organic quality by Pyrolysis-GC-MS. *Water Research*, 30(11), 2621–2632. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00162-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00162-5)
- World Health Organization. (2017). *Guidelines for Drinking-water Quality* (4th ed.).
- Xie, P., Ma, J., Fang, J., Guan, Y., Yue, S., Li, X., & Chen, L. (2013). Comparison of permanganate preoxidation and preozonation on algae containing water: Cell integrity, characteristics, and chlorinated disinfection byproduct formation. *Environmental Science and Technology*, 47(24), 14051–14061. <https://doi.org/10.1021/es4027024>
- Yaman, F. B., Çakmakcı, M., Yüksel, E., Özen, İ., & Gengeç, E. (2017). Removal of micropollutants from Sakarya River water by ozone and membrane processes. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(9). <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6128-7>
- Zamyadi, A., Dorner, S., Sauvé, S., Ellis, D., Bolduc, A., Bastien, C., & Prévost, M. (2013a). Species-dependence of cyanobacteria removal efficiency by different drinking water treatment processes. *Water Research*, 47(8), 2689–2700. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.02.040>
- Zamyadi, A., Fan, Y., Daly, R. I., & Prévost, M. (2013b). Chlorination of *Microcystis aeruginosa*: Toxin release and oxidation, cellular chlorine demand and disinfection by-products formation. *Water Research*, 47(3), 1080–1090. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.11.031>

- Zamyadi, A., Ho, L., Newcombe, G., Bustamante, H., & Prévost, M. (2012). Fate of toxic cyanobacterial cells and disinfection by-products formation after chlorination. *Water Research*, 46(5), 1524–1535. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.06.029>
- Zhang, X. J., Chen, C., Ding, J. Q., Hou, A., Li, Y., Niu, Z. Bin, ... Laws, E. A. (2010). The 2007 water crisis in Wuxi, China: Analysis of the origin. *Journal of Hazardous Materials*, 182(1–3), 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.06.006>
- Zhang, Xuezhong, Amendola, P., Hewson, J. C., Sommerfeld, M., & Hu, Q. (2012). Influence of growth phase on harvesting of *Chlorella zofingiensis* by dissolved air flotation. *Bioresource Technology*, 116, 477–484. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.04.002>
- Zhang, Xufeng, Ma, Y., Tang, T., Xiong, Y., & Dai, R. (2020). Removal of cyanobacteria and control of algal organic matter by simultaneous oxidation and coagulation - comparing the H₂O₂/Fe(II) and H₂O₂/Fe(III) processes. *Science of the Total Environment*, 720, 137653. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137653>
- Zhou, S., Zhu, S., Shao, Y., & Gao, N. (2015). Characteristics of C-, N-DBPs formation from algal organic matter: Role of molecular weight fractions and impacts of pre-ozonation. *Water Research*, 72, 381–390. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.023>

Webové zdroje:

- Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody. Online dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-252>